

TESIS DOCTORAL

SÍNDROME DE FRAGILIDAD EN PACIENTES CON FRACTURA VERTEBRAL. ASOCIACIÓN CON POLIMORFISMOS DE GENES DE AUTOFAGIA



TATIANA ELIZABETH CARRANCO MEDINA

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina

2017

TESIS DOCTORAL

SÍNDROME DE FRAGILIDAD EN PACIENTES CON
FRACTURA VERTEBRAL. ASOCIACIÓN CON
POLIMORFISMOS DE GENES DE AUTOFAGIA

TATIANA ELIZABETH CARRANCO MEDINA

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina

2017

DIRECTORES DE TESIS:

PROF. DR. ROGELIO GONZALEZ SARMIENTO

PROF. DR. JAVIER DEL PINO MONTES



El Prof. Dr. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO, Catedrático del Departamento de Medicina, Universidad de Salamanca.

El Prof. Dr. JAVIER DEL PINO MONTES, Profesor Titular del Departamento de Medicina, Universidad de Salamanca.

CERTIFICAN:

Que el trabajo titulado “SÍNDROME DE FRAGILIDAD EN PACIENTES CON FRACTURA VERTEBRAL. ASOCIACIÓN CON POLIMORFISMOS DE GENES DE AUTOFAGIA”, que presenta la Licenciada en Medicina, Doña Tatiana Elizabeth Carranco Medina, ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Medicina y reúne, a su juicio, todos los requisitos necesarios para que sea presentado ante el tribunal correspondiente y optar al Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, y a los efectos oportunos, expiden el presente certificado en Salamanca, en julio de 2017.

Dr. Rogelio González Sarmiento

Dr. Javier del Pino Montes

A mis padres:

Por su apoyo incondicional.

Por ser el pilar fundamental en mi vida.

“Un sueño no se hace realidad mágicamente: se necesita sudor, determinación y trabajo duro”

Colin Powell

AGRADECIMIENTOS

La gratitud da sentido a nuestro pasado, trae paz al presente y crea una visión para el mañana.

Me gustaría dar gracias a todas las personas que posibilitaron realizar este trabajo.

Agradezco a mis padres por ser apoyo incondicional, gracias a ellos he logrado llegar lejos en este propósito, siempre han sido mi ayuda y motivación para avanzar y perseverar en el logro de objetivos en mi vida.

A mis hermanos y más familiares por confiar en mis capacidades y participar con su ayuda inyectando su fuerza espiritual.

Gracias a mis directores de tesis, los doctores **Javier del Pino** y **Rogelio González**, por haber depositado en mí la confianza para realizar este trabajo; con los profundos conocimientos y amplia experiencia profesional haberme guiado, de forma acertada, en este arduo camino y, sobre todo, por dedicarme un tiempo dentro de sus apretadas agendas de trabajo profesional.

Mi gratitud para las personas que conforman servicio de Reumatología de Salamanca, gracias de corazón a todos por recibirme con los brazos abiertos, por enseñarme el arte de la Reumatología y sobre todo por haber sido una parte muy importante en mi vida, en especial a Mariola, Susana y Cristina que siempre han sido y serán un ejemplo a seguir; especial reconocimiento a Inés y a Guadalupe.

Como no agradecer a Ricardo Usategui por su apoyo, su ayuda incondicional y por sus ánimos en momentos difíciles. Gracias de corazón.

Al Dr. Ricardo Ruano de servicio de Medicina Nuclear por su ayuda para poder completar este trabajo, al igual que a sus residentes en especial a Bertha por su prestancia y predisposición manifiestas.

Especial reconocimiento y gratitud a Marga por su atención permanente a mis inquietudes, colaborándome a la distancia, en la información y requerimientos para el proceso de defensa de tesis, siempre presta a guiarme.

Gracias a todas las personas que hacen mi vida más feliz de muchas maneras, que siempre están ahí, me refiero a mis amigos y amigas: Maru, Vero, Glen, Carlos, Marian, Cale, Lore, Paty, Juan.... Que me han dado su ánimo, transformado en apoyo en el cruce de este camino y hacer de los momentos difíciles más suaves y llevaderos.

Y por último, pero no menos importante, agradecer a los pacientes por haber hecho posible este trabajo, por su desinteresada y anónima colaboración, misma que redundará en beneficio de más pacientes.

A todos Uds., gracias de corazón por haber hecho posible este sueño.

ÍNDICES

INDICES DE CAPITULOS

1	INTRODUCCION	1
1.1	DATOS DEMOGRÁFICOS.	3
1.2	SÍNDROME DE FRAGILIDAD.	4
1.2.1	DEFINICIÓN.	4
1.2.2	PREVALENCIA E INCIDENCIA.	8
1.2.3	FISIOPATOLOGÍA.	9
1.2.4	PRESENTACIÓN CLÍNICA.	15
1.3	OSTEOPOROSIS.	16
1.3.1	DEFINICIÓN.	16
1.3.2	EPIDEMIOLOGÍA.	17
1.3.3	FACTORES DE RIESGO.	18
1.3.4	FISIOPATOLOGÍA Y ETIOPATOGENIA.	19
1.3.5	PRESENTACIÓN CLÍNICA.	21
1.3.6	SÍNDROME DE FRAGILIDAD Y FRACTURAS.	24
1.3.7	ABORDAJE DEL RIESGO DE FRACTURA PARA SU PREVENCIÓN.	26
1.4	AUTOFAGIA	32
1.4.1	AUTOFAGIA EN EL ENVEJECIMIENTO.	34
1.4.2	AUTOFAGIA EN CÉLULAS ÓSEAS.	35
2	HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	38
3	PACIENTES Y MÉTODOS.....	43
3.1	PACIENTES Y CONTROLES:	45
3.1.1	CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	45
3.1.2	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	45
3.2	MÉTODO:.....	45
3.2.1	RECOGIDA DE DATOS:	45
3.2.2	OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA Y AISLAMIENTO DEL DNA DE ALTO PESO MOLECULAR..	49
3.2.2.1	Obtención de muestras de sangre periférica.....	49
3.2.2.2	Aislamiento del DNA de alto peso molecular.	49
3.2.2.3	Cuantificación del DNA:	50
3.2.3	DISCRIMINACIÓN ALÉLICA DE SNPs (POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO ÚNICO) MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) CON SONDAS TAQMAN®	51
3.2.4	SNPs ESTUDIADOS.....	54
3.2.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	55

<u>4</u>	<u>RESULTADOS.....</u>	<u>57</u>
4.1	DATOS EPIDEMIOLOGICOS Y CLINICOS.....	59
4.2	FRAGILIDAD.	72
4.3	ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE GENES DE AUTOFAGIA.....	80
<u>5</u>	<u>DISCUSION.....</u>	<u>96</u>
5.1	DATOS EPIDEMIOLOGICOS Y CLINICOS.	98
5.2	ESTUDIO DE SINDROME DE FRAGILIDAD EN PACIENTES CON FRACTURA VERTEBRAL.....	101
5.3	ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS DE GENES IMPLICADOS EN AUTOFAGIA: ATG2B, ATG5, ATG10 Y ATG16L1.....	102
<u>6</u>	<u>CONCLUSIONES.....</u>	<u>107</u>
<u>7</u>	<u>ANEXOS.....</u>	<u>112</u>
<u>8</u>	<u>BIBLIOGRAFÍA.....</u>	<u>123</u>

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferencia entre la población de hombres y mujeres por grupo de edad, 2016.....	3
Figura 2. Personas de 65 y más años respecto del total de la población, por comunidades autónomas, 2016.....	4
Figura 3. Vía fisiopatológica de fragilidad	10
Figura 4. Patogénesis del síndrome de fragilidad: vías modales hipotéticas hacia la fragilidad y posibles mecanismos subyacentes	11
Figura 5. Mecanismos de Sarcopenia	14
Figura 6. Clasificación de las fracturas vertebrales según el método semicuantitativo de Genant. 22	
Figura 7. Imagen de una densitometría de columna.	27
Figura 8. Imagen de una densitometría de fémur	27
Figura 9. Página de cálculo de riesgo de fractura para la población española mediante el FRAX ...	30
Figura 10. Mecanismo de autofagia.....	34
Figura 11. Mecanismos que alteran la función de los osteocitos.....	36
Figura 12. Representación esquemática de un ensayo de RT-PCR usando el método TaqMan® ...	52
Figura 13. Fases del programa utilizadas en el termociclador.....	53
Figura 14. Representación de los resultados de la discriminación alélica con sondas TaqMan del polimorfismo rs2241880 del gen ATG16L1	54

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios de fragilidad de Fried	7
Tabla 2. Criterios diagnósticos de la sarcopenia según EWGSOP	14
Tabla 3. Criterios diagnósticos densitométricos de OP (OMS)	17
Tabla 4. Factores de riesgo de fractura osteoporótica	18
Tabla 5. Factores de riesgo para la osteoporosis.....	19
Tabla 6. Factores de riesgo en el FRAX	29
Tabla 7. Polimorfismos de autofagia analizados en el estudio.....	54
Tabla 8. Datos clínicos y epidemiológicos.....	59
Tabla 9. Características de las fracturas.....	60
Tabla 10. Datos densitométricos.	61
Tabla 11. Datos analíticos.	61
Tabla 12. Tratamientos	62
Tabla 13. Variables clínicas en pacientes con osteoporosis y osteopenia.....	62
Tabla 14. Fracturas vertebrales y asociadas a fracturas no vertebrales en pacientes con osteopenia y osteoporosis	63
Tabla 15. Número de fracturas en pacientes con osteopenia y osteoporosis.	63
Tabla 16. Variables densitométricas en pacientes con osteoporosis y osteopenia.	64
Tabla 17. Herramientas de valoración para riesgo de fractura en pacientes con OP y osteopenia.....	65
Tabla 18. Variables analíticas en pacientes con osteoporosis y osteopenia.	65
Tabla 19. Variables clínicas en pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.	66
Tabla 20. Variables densitométricas en pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.	67
Tabla 21. Herramientas de valoración para riesgo de fractura en pacientes con fractura vertebral y fractura no vertebral.	68
Tabla 22. TBS y variables clínicas.	69
Tabla 23. TBS y número de fracturas.....	69
Tabla 24. TBS en pacientes con fracturas vertebrales y fracturas no vertebrales.....	70
Tabla 25. TBS en pacientes con osteopenia y osteoporosis.	70
Tabla 26. TBS y variables densitométricas.....	71
Tabla 27. Fragilidad y variables clínicas.	72
Tabla 28. Fragilidad y número de fracturas	72
Tabla 29. Fragilidad y pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.	73

Tabla 30. Fragilidad y fracturas vertebrales.....	73
Tabla 31. Fragilidad en pacientes con osteoporosis y osteopenia.	73
Tabla 32. Fragilidad y variables densitométricas.....	74
Tabla 33. Fragilidad y herramientas de evaluación para riesgo de fractura.....	75
Tabla 34. Corticoides y variables clínicas.....	76
Tabla 35. Fracturas y corticoides.	76
Tabla 36. Corticoides y fracturas vertebrales.	77
Tabla 37. Uso de corticoides y variables densitométricas.....	78
Tabla 38. Corticoides y herramientas de valoración para el riesgo de fractura.	79
Tabla 39. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 en individuos sanos y pacientes con fracturas.	80
Tabla 40. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 en pacientes con osteoporosis y osteopenia.....	81
Tabla 41. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 y pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.	82
Tabla 42. Fragilidad y distribución genotípica para los polimorfismos de rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5.	83
Tabla 43. Distribución genotípica para los polimorfismos de rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 y TBS.	84
Tabla 44. Distribución genotípica para el polimorfismo rs3759601 ATG2B y herramientas de valoración de riesgo de fractura.	86
Tabla 45. Distribución genotípica para el polimorfismo rs3759601 ATG2B y variables analíticas...	87
Tabla 46. Distribución genotípica para el polimorfismo rs1864183 ATG10, y herramientas de valoración para riesgo de fractura.	89
Tabla 47. Distribución genotípica para el polimorfismo rs1864183 ATG10 y variables analíticas...	90
Tabla 48. Distribución genotípica para el polimorfismo rs2241880 ATG16L1, y variables analíticas.	92
Tabla 49. Distribución genotípica para el polimorfismo rs2245214 ATG5 y herramientas de valoración para riesgo de fractura.	94

1 INTRODUCCION

Fragilidad es un síndrome estrechamente asociado al envejecimiento, que se caracteriza por una disminución de la reserva fisiológica, y una capacidad reducida del organismo para enfrentar factores estresores, lo que conlleva a que el individuo presente un riesgo aumentando de incapacidad, una pérdida de la resistencia y una mayor vulnerabilidad a eventos adversos manifestada por mayor morbilidad y mortalidad. Además, está asociado a la disminución de la masa muscular magra, de la densidad ósea, y a la presencia de sarcopenia, lo que resulta en un impacto negativo para la salud de las personas mayores y, en consecuencia, para los gastos sanitarios.

El aumento del envejecimiento de la población cada vez más tiene un impacto significativo en la sociedad y el sistema de salud, por lo cual es importante la identificación de las personas mayores que son frágiles o están en riesgo de convertirse en frágiles ya que una intervención y evaluación apropiada constituye una piedra angular para evitar los resultados negativos del síndrome de fragilidad.

1.1 DATOS DEMOGRÁFICOS.

Durante el último siglo ha crecido la población envejecida. La proporción de personas de ≥ 65 años en Europa alcanzará el 30% de la población en el año 2050. España continúa su proceso de envejecimiento y según los datos del Padrón Continuo 2016 del Instituto Nacional de Estadística (INE), al 1 de enero de 2016 había 8.657.705 personas mayores (≥ 65 años), el 18,4% sobre el total de la población (46.557.008); siendo octogenarios el 6% de toda la población. Según la proyección del INE en el 2066 habrá más de 14 millones de personas mayores, 34,6% del total de la población que alcanzará los 41.068.643 habitantes. El sexo predominante en la vejez es el femenino: hay un 32,9% más de mujeres (4.940.008) que de hombres (3.717.697).

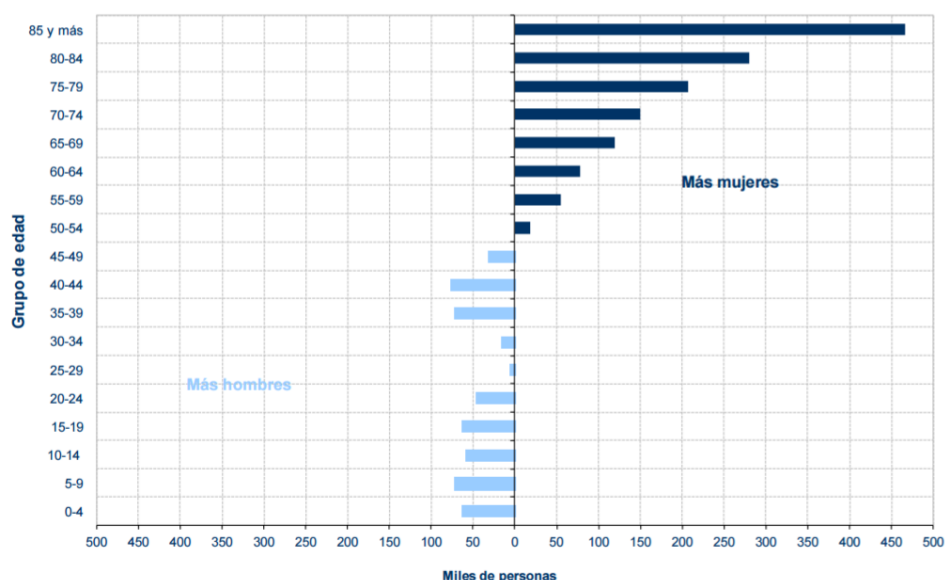


Figura 1. Diferencia entre la población de hombres y mujeres por grupo de edad, 2016. Fuente: INE: INEBASE. Estadística del Padrón Continuo a 1 de enero de 2016. Consulta en marzo de 2017.

Castilla y León, Asturias, Galicia, País Vasco y Aragón son las comunidades autónomas más envejecidas, con proporciones de personas mayores que superan el 21%. Canarias, Murcia y Baleares son las comunidades con proporciones más bajas, por debajo del 16%. Cataluña, Andalucía, y Madrid son las comunidades con más población de edad, superando el millón de personas mayores cada una.

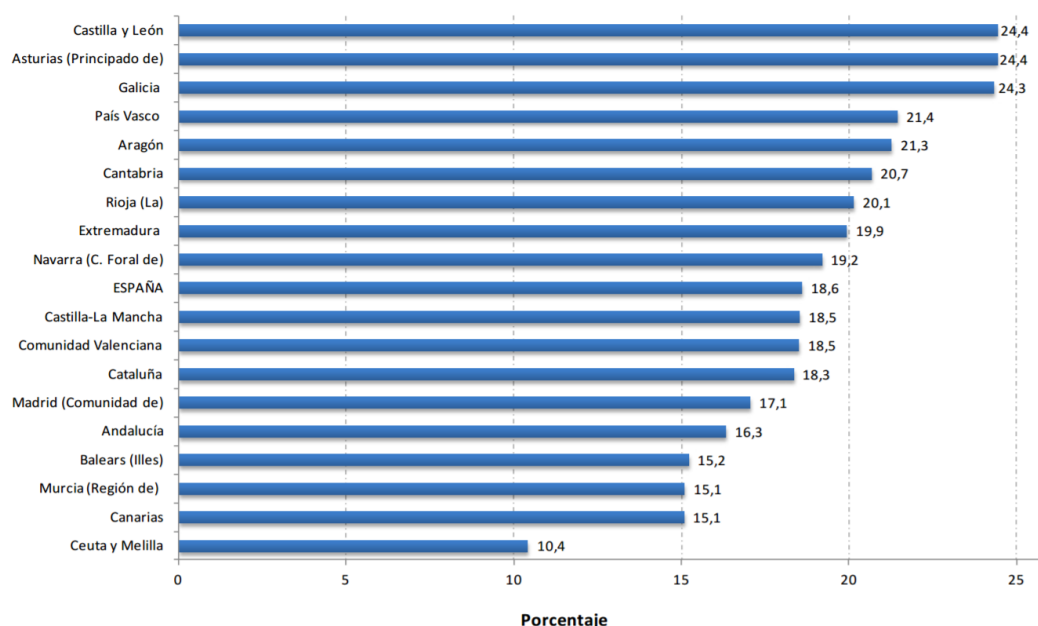


Figura 2. Personas de 65 y más años respecto del total de la población, por comunidades autónomas, 2016.

Fuente: INE: INEBASE. Estadística del Padrón Continuo a 1 de enero de 2016. Consulta en marzo de 2017

Alemania (17,3 millones), Italia (13,4), Francia (12,6), Reino Unido (11,7) y España (8,7) son los países de la Unión Europea con una cifra más alta de personas mayores (2016).

1.2 SÍNDROME DE FRAGILIDAD.

1.2.1 DEFINICIÓN.

En los últimos 15 años la investigación sobre fragilidad ha aumentado de manera importante, se han realizado impresionantes progresos y ha crecido exponencialmente el número de publicaciones científicas sobre este tema, al igual que se han hecho esfuerzos a nivel internacional para llegar a un consenso de fragilidad (Chen et al., 2014).

La fragilidad es un síndrome que se caracteriza por la disminución de la reserva homeostática y una capacidad de respuesta reducida del organismo ante los estresores intrínsecos y extrínsecos, aumentando de esta manera la vulnerabilidad secundaria al envejecimiento por una declinación de múltiples sistemas fisiológicos y acumulación de procesos patológicos con resultados adversos que incluyen caídas, hospitalización, y muerte (Ferrucci et al., 2012; Borges et al., 2011; Buchner y Wagner 1992; Walston y Fried 1999). La fragilidad es parte de un continuo asociado a la edad

avanzada y que actúa, sobre el plano biológico, en la deficiencia de diversos sistemas: endocrino, cardiovascular, inmunológico, nervioso, cognitivo y musculoesquelético (Bergman et al., 2004; Sternberg et al., 2011).

Para Brown et al., la fragilidad es un estado exclusivamente dependiente de la función motriz que puede identificarse con sólo realizar pruebas de función física. No obstante, el elemento central de este síndrome parece sí estar relacionado con la función motriz (Ferrucci et al., 2002), así la pérdida de masa y fuerza muscular, o sarcopenia es la clave de este síndrome (Cooper et al., 2012). Sin embargo, la fragilidad no tiene una definición precisa ni es un diagnóstico específico (Gillick M 2001). Es una condición común en gente mayor pero no necesariamente está presente en el proceso normal del envejecimiento, ya que mucha gente mayor no es ni será frágil, además la fragilidad se ha observado en gente joven (Bortz W. 2002).

A pesar de que se han realizado varias investigaciones sobre fragilidad, aún existe debate sobre su definición, prevalencia, herramientas de evaluación y características de las personas mayores en varios estadios de fragilidad (Collard et al., 2012; Chen et al., 2014). De igual manera los criterios diagnósticos han ido cambiando y de hecho los criterios actuales que se utilizan descritos por Fried no satisfacen plenamente a los investigadores y clínicos actuales.

En la literatura científica las definiciones más referenciadas son las siguientes:

- Fried en el estudio Cardiovascular Health Study (CHS) en el 2011 describe 5 criterios de fragilidad y en el 2004 la define como una entidad clínica que abarca otros síntomas, además de la discapacidad que no es consecuencia irremediable de la fragilidad, y no es un determinante necesario si no hay otros factores clínicos sobreañadidos que conviertan al individuo que la presenta en una persona vulnerable para desarrollar episodios adversos.
- Rockwood en 1994 se refiere a la fragilidad como un riesgo o dependencia en otras personas, riesgo sustancial a sufrir resultados adversos, pérdida de reservas fisiológicas, ausencia de soporte social, enfermedades crónicas, problemas psicosociales, complejidad médica, presentación atípica de las enfermedades y la posibilidad de beneficiarse de programas geriátricos. En 1999 la define como la combinación de edad, enfermedad y otros factores como falta de ejercicio y estado nutricional deficiente que hacen a los pacientes vulnerables. Y por último en el año 2005 se refiere a un síndrome caracterizado por disminución de reservas y de resistencia a agentes estresantes, resultando una suma de deterioros de sistemas fisiológicos, causando vulnerabilidad y resultados adversos.
- Buchner y Wagner en 1992 definen a la fragilidad como un estado de reducción de reservas fisiológicas, asociada a un incremento de la susceptibilidad a sufrir incapacidad. Provoca daños en la fuerza, la movilidad, el equilibrio y la resistencia causando problemas en la vida diaria y que puede provocar caídas, deterioro funcional e inactividad.
- Campbell y Buchner en 1999 considera que es un síndrome de reducción multisistémica en la capacidad fisiológica, como resultado del cual la función de las personas mayores puede verse comprometida gravemente por cambios ambientales. Describe que las características claves de la fragilidad son la interacción con el ambiente e influencia de dicha interacción, la relación entre el estrés sufrido y el daño provocado y las descompensaciones clínicas que puedan estar precipitadas tras sufrir estrés físico y psicosocial. El daño puede ser identificado previamente a las manifestaciones clínicas y puede ser corregido. Dichas características son dependientes entre sí.

- Hammerman en 1999 concluye que las personas mayores tienden a desarrollar importantes enfermedades crónicas en relación con la edad, que interactúan y contribuyen a desarrollar fragilidad. La fragilidad puede representar la complejidad y la expresión de respuestas homeostáticas alteradas frente al estrés.
- Brown en 1995 describe a la fragilidad como aquel estado donde disminuye la capacidad para realizar alguna práctica importante o actividad social de la vida diaria (capacidad de reserva).
- Strawbridge en 1998 la define como un grupo de problemas y pérdida de la capacidad que hace al individuo más vulnerable a cambios ambientales; es una situación que afecta seriamente a la calidad de vida del anciano y está asociado con efectos adversos como pérdida de movilidad, incremento en el riesgo de caídas y pérdida funcional.
- Chin A. Paw en 1999 describe a los ancianos frágiles como aquellos que presentan un elevado riesgo de sufrir incapacidad, siendo así excluidos de la comunidad, pero todavía viven en ella. Son aquellos que presentan dificultades en 2 o más de los 4 dominios siguientes: función física, nutritiva, función cognitiva y función sensorial.
- Ferrucci en el 2004 considera que la fragilidad física aparece por la presencia de daño en varios campos fisiológicos. Entre ellos se incluye la movilidad, equilibrio, resistencia muscular, percepción, capacidad motora, nutrición (ya sea estado nutricional o cambios en el peso), resistencia (incluyendo la sensación de fatiga o agotamiento) y actividad física.
- Winograd en 1991 define frágil como aquel que presenta cansancio, debilidad muscular, fatiga y marcha lenta.
- Studenski en el 2004 describe a la fragilidad como un síndrome de fatiga, debilidad y deterioro de la actividad física, esto puede darse a cambios hormonales, inflamatorios y enfermedades crónicas.

Las personas mayores que son consideradas como frágiles, presentan cambios a nivel de los cuatro procesos biológicos principales: composición corporal, homeostasis, energía vital y neuro-degeneración, que son característicos del fenotipo de envejecimiento. Además, implica dependencia en otras personas, envejecimiento acelerado, patologías crónicas médicas y psicosociales; y pueden beneficiarse de programas específicos geriátricos (Yeolekar y Sukumaran 2014).

Actualmente las dos principales definiciones utilizadas y que tienen herramientas de evaluación son: el fenotipo de fragilidad, también conocido como la definición de Fried del estudio CHS y el índice de fragilidad. Hay que tener en cuenta que los criterios de fragilidad pueden ser diferentes según el medio en el que se desarrolle el estudio: comunitario, hospitalario, etc.

a. Fenotipo de Fragilidad:

La definición de fenotipo de fragilidad como un síndrome geriátrico fue propuesta y realizada en el estudio CHS por el grupo encabezado por la doctora Linda Fried. Fue un estudio de cohorte con 5300 personas mayores no institucionalizadas, es decir, que vivían en la comunidad en los Estados Unidos (Fried L. et al., 2001). Describieron 5 criterios predefinidos de fragilidad que son bien conocidos y son los más utilizados en las investigaciones, pero no son fácilmente aplicables en la práctica clínica.

Tabla 1. Criterios de fragilidad de Fried. (Fried L. et al., 2001).

Pérdida de peso no intencionada
5 kilogramos o bien >5% del peso corporal en el último año.
Debilidad muscular
Fuerza prensora <20% del límite de la normalidad ajustado por sexo y por índice de masa corporal.
Baja resistencia-cansancio
Autorreferido por la misma persona e identificado por dos preguntas de la escala CES-D. (<i>Center Epidemiological Studies-Depression</i>)
Lentitud de la marcha
Velocidad de la marcha, para recorrer una distancia de 4,5 m <20% del límite de la normalidad ajustado por sexo y altura.
Nivel bajo de actividad física
Cálculo del consumo de calorías semanales por debajo del quintil inferior ajustado por sexo.
La presencia de 3 ó más de estos criterios nos indica fragilidad.

La suma de estos criterios da una puntuación que clasifica a los pacientes en tres grupos: no frágil o robusto si no presenta ningún criterio (puntuación 0), prefrágil si presenta uno o dos criterios (puntuación 1-2) y frágil si existe tres o más de los criterios (puntuación 3-5). Estos criterios no toman en cuenta aspectos psicosociales.

Esta definición diferencia a la fragilidad como una entidad clínica distinta de la discapacidad, la cual se mide por el grado de deterioro en la realización de las actividades de la vida diaria; además diferencia de la comorbilidad definida por dos o más patologías crónicas, que cuando empeoran, o no están controladas, o se acumulan más patologías, los individuos pueden desarrollar fragilidad. Estas tres condiciones son predictivas sobre los resultados adversos de salud por lo cual tienen cierta característica de solapamiento (Chen et al., 2014).

Es importante conocer la diferencia entre fragilidad y discapacidad, es una relación de causa efecto. La fragilidad causa un aspecto particular de discapacidad, el cual resulta cuando se alcanza el umbral de severidad, de debilidad y disminución o la tolerancia al ejercicio y usualmente indica que la persona tiene un alto riesgo de morbi-mortalidad; sin embargo, la experiencia clínica sugiere que mientras algunos (pero no todos) los individuos frágiles son discapacitados y no todos los individuos discapacitados son frágiles (Ensrud et al., 2008; Morley et al., 2002). Existe cierto consenso en que la fragilidad es un estado de prediscapacidad, podemos hablar de discapacidad si se ha producido restricción o pérdida de la capacidad para realizar actividades de la vida diaria, que indicaría la pérdida de función; mientras que la fragilidad indicaría inestabilidad y riesgo de pérdida de función. Así la discapacidad puede considerarse como la consecuencia más grave e importante del síndrome de fragilidad (Morley 2003; Kan G et al., 2008).

Para la Organización Mundial de la Salud la discapacidad corresponde a una reducción, parcial o total, de la capacidad de llevar a cabo una actividad de la forma o en los límites considerados como normales para el ser humano (OMS 1993).

b. Índice de Fragilidad:

Fue desarrollado por Rockwood y colaboradores, en el estudio canadiense de salud y envejecimiento. Se basa en una evaluación geriátrica integral, contando el número de déficits acumulados incluyendo enfermedades, deterioro físico y cognitivo, factores de riesgo psicosocial, actividades de la vida diaria y síndromes geriátricos comunes distintos de la fragilidad.

Para considerar a una variable como déficit debe ser adquirida, asociada a la edad, asociada a efecto adverso de salud y que la proporción de adultos mayores que sufren este déficit no sea del 100%. Son 70 variables y en función de la suma de dichos déficits, se incrementará la probabilidad de muerte (Rockwood K, Mitnitski A., 2011).

En comparación con el fenotipo de fragilidad descrito anteriormente, este índice parece ser más sensible en predecir efectos adversos de salud debido a su escala de riesgo más finamente detallada y la inclusión de los déficits que probablemente tienen relaciones causales con los resultados clínicos adversos (Rockwood K, Mitnitski A., 2007). Su principal desventaja es el número de parámetros que lo hacen poco efectivo en la práctica clínica.

c. Indicador de la fragilidad Tilburg

Gobbens RJ., y colaboradores describen el indicador de la fragilidad Tilburg (TFI) como un auto-cuestionario para medir la fragilidad en las personas mayores de la comunidad, toma en cuenta componentes tanto físicos como psicosociales, el cuestionario consta de 15 ítems y el punto de corte para considerar a un individuo como frágil es 5/15 (Gobbens RJ et al., 2010). En el 2012 realizaron un estudio de validez predictiva del TFI, concluyendo que al ser una herramienta de evaluación multidimensional, es un instrumento válido para predecir la discapacidad, evaluar los indicadores de utilización de recursos sanitarios y de la calidad de vida de personas mayores dentro de uno o dos años (Gobbens et al., 2012).

Sutton et al., realizaron una revisión sistemática de las propiedades psicométricas de varias herramientas para evaluar la fragilidad y como conclusión destaca que el TFI tiene la evidencia más alta de fiabilidad y validez, y ha sido el más ampliamente examinado en términos de propiedades psicométricas. Sin embargo, no hay pruebas suficientes en la actualidad para determinar este indicador como la mejor herramienta para su uso en la investigación y la práctica clínica de síndrome de fragilidad (Sutton et al., 2016).

En la actualidad no existe una herramienta estándar de oro para evaluar la fragilidad. En vista de la predicción del gran aumento de la población envejecida a nivel mundial, y los resultados adversos de salud como consecuencia del síndrome de fragilidad, además de las posibles intervenciones que se puede realizar para prevenir o fortalecer a los individuos, la investigación sobre las herramientas precisas para evaluar la fragilidad sigue siendo una prioridad.

1.2.2 PREVALENCIA E INCIDENCIA.

Existen pocos datos sobre la prevalencia del síndrome de fragilidad por la falta de consenso en la definición y herramientas de evaluación, sin poder realizar una valoración en las diferentes poblaciones.

La estimación de la prevalencia del síndrome de fragilidad varía según las características sociodemográficas donde se estudie: baja en la comunidad en general y mayor en instituciones como en los hogares de ancianos y hospitales. La prevalencia de fragilidad aumenta de manera exponencial a medida que se envejece, desde un 3,2% a los 65 años, un 16,3% en los mayores de 80 años y un 23,1% a los 90 años. En el estudio del fenotipo de fragilidad descrito por Fried, la incidencia

de cuatro años fue 7,2% y la prevalencia global fue de 6.9% en la comunidad. En el estudio de Salud Cardiovascular la prevalencia es más alta en mujeres que en hombres (8% vs 5%) y mayor en afroamericanos que en caucásicos (13% vs 6%); y en el estudio de envejecimiento y salud de la mujer (Women Health and Ageing Study) la prevalencia es de 16% en mujeres y 10% en hombres (Fried et al., 2001).

En Europa la prevalencia es del 17% variando desde el 5.8% en Suiza al 27% en España, mientras que en Latinoamérica y el Caribe es mayor variando desde 30 al 40% en mujeres y del 21% al 35% en hombres (Santos-Eggimann et al., 2009; Alvarado B., 2008). En el estudio Toledo en España la prevalencia de fragilidad fue del 8,4%, similar a la descrita en otras poblaciones de la cuenca mediterránea (García et al., 2011). Jürschik Giménez y colaboradores describen la prevalencia de una población en Lleida de adultos mayores no institucionalizados siendo de 8.5%, muy similar a otros estudios basados en los criterios de Fried que van de 3% al 7% (Avila-Funes et al., 2008).

La incidencia aumenta con la edad, el sexo femenino, en afroamericanos, bajo nivel socioeconómico, mal estado de salud, mayor comorbilidad, deterioro cognitivo, y discapacidad (Yeolekar y Sukumaran 2014).

1.2.3 FISIOPATOLOGÍA.

La etiopatogenia de la fragilidad parece ser multifactorial y su fisiopatología está influida por la interacción y superposición de factores tales como alteraciones del estado de ánimo, el deterioro cognitivo, y manifestaciones clínicas diversas que pueden identificarse como componentes de muchas enfermedades crónicas.

En la fisiopatología están implicados múltiples sistemas fisiológicos como el musculoesquelético, neuroendocrino, inmunológico, así como la inflamación crónica que contribuye a la fragilidad directa e indirectamente a través de otros procesos fisiopatológicos intermedios. Factores etiológicos potenciales incluyen factores genéticos\epigenéticos, metabólicos, ambientales, factores estresantes y enfermedades agudas/crónicas (Avila-Funes et al., 2008; Chen X. et al., 2014). Se piensa que la variación genética y los cambios moleculares relacionados con la edad podrían proporcionar información básica sobre el deterioro fisiológico observado en estos sistemas implicados. Siendo la senectud celular, la pérdida de las estructuras teloméricas, la disfunción mitocondrial, el incremento en la producción de radicales libres y las alteraciones en la capacidad reparativa del ADN algunos de los factores relacionados con mayor posibilidad (Walston et al., 2006). (Figura 3).



Figura 3. Vía fisiopatológica de fragilidad (Borges 2011).

- Disfunción Inflamatoria: Inflamación crónica y activación inmune.

Un elevado estado inflamatorio se caracteriza por aumento en los niveles de moléculas inflamatorias como la interleucina 6 (IL6) y proteína C reactiva. (PCR). La IL6 es una citoquina pro inflamatoria, se asocia a algunos cambios fenotípicos de la edad avanzada que se asemeja a un proceso de inflamación crónica (disminución de la masa muscular, osteopenia y anemia) (Ershler y Keller 2000). Se ha observado una asociación directa entre niveles elevados séricos de IL6 y fragilidad en los adultos mayores comunitarios. La IL6 induce la síntesis de proteínas como la PCR, las haptoglobinas, el fibrinógeno, factor VIII y el dímero D, e influye de forma negativa en la síntesis de otras proteínas como la albúmina (Leng et al., 2002).

Otras citocinas investigadas son la interleucina 1, así como el factor de necrosis tumoral alfa que están incrementadas y ejercen un efecto catabólico acelerado (Walston et al., 2002; Cohen, Harris y Pieper 2003).

Los niveles elevados de neopterinina, un marcador molecular para la activación inmune mediada por monocitos y macrófagos está asociado con fragilidad en los ancianos comunitarios, sugiriendo que la activación inmune puede ser un proceso que precede a la inflamación crónica (Leng et al., 2011).

Hay una alteración a nivel de los glóbulos blancos y sus subpoblaciones, los neutrófilos y monocitos están aumentados y conjuntamente con las moléculas proinflamatorias juegan un papel importante en la patogénesis de la fragilidad, directamente o a través de su influencia perjudicial sobre otros sistemas fisiológicos. A nivel del sistema inmune innato, la proliferación de las células mononucleares en sangre periférica se encuentra disminuida, y la expresión de genes específicos para la regulación de los monocitos está alterada. Existen escasos datos sobre las alteraciones en el sistema inmune adaptativo, específicamente en las células B, sin embargo, se han identificado alteraciones en las células T, como el aumento de CD8+, CD8+ CD28-, CCR5+ (Leng et al., 2007, 2009; Qu T, et al., 2009; Yao y Leng 2011).

Se ha demostrado la presencia de títulos séricos de inmunoglobulina G anti-CMV (Citomegalovirus) en pacientes con fragilidad, por lo cual se cree que la infección crónica/persistente por CMV pudiera contribuir a la disfunción inflamatoria (Schmaltz et al., 2005; Wang et al., 2010). La presencia de ADN en los monocitos de sangre periférica se observa en la infección crónica por CMV, así como el aumento de células T CD8+ y de niveles séricos de neopterinina (Leng, Qu T 2011; Leng, Li H 2011).

La inflamación crónica podría contribuir a la fragilidad a través de sus efectos perjudiciales sobre otros sistemas fisiológicos, como el músculoesquelético, el endocrino, el hematológico, el cardiovascular (Chaves PH et al., 2005; Newman A., et al., 2001), y la alteración en la regulación nutricional (Leng et al., 2007). De hecho, varios estudios han demostrado que el incremento de los mediadores inflamatorios celulares y moleculares tiene asociación inversa con las concentraciones de hemoglobina, factor de crecimiento insulínico (IGF) -1 y niveles de albúmina, micronutrientes y vitaminas (Leng y Cappola 2004; Leng y Hung 2009; Michelon et al., 2006; Vasto et al., 2007). Tomando en cuenta estos factores, se ha propuesto que el estado inflamatorio juega un papel clave en la patogénesis de la fragilidad directa o indirectamente, a través de otros procesos fisiopatológicos intermedios. (Figura 4)

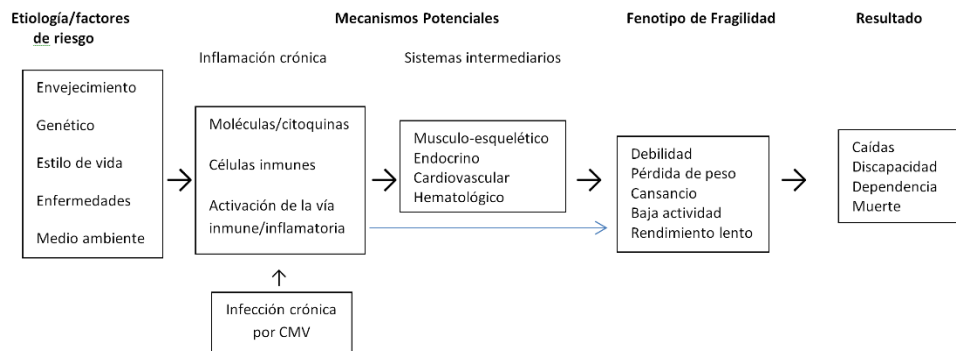


Figura 4. Patogénesis del síndrome de fragilidad: vías modales hipotéticas hacia la fragilidad y posibles mecanismos subyacentes (Chen X et al., 2014).

- Sistema endocrino.

Durante el envejecimiento existe una disminución en los niveles de hormonas anabólicas que contribuye a la fragilidad y a la pérdida involuntaria del músculo que se denomina sarcopenia. Los andrógenos y la hormona del crecimiento están asociados a la fuerza y a la masa muscular, por lo que es razonable pensar que su disminución tiene un papel importante en el desarrollo de la fragilidad. De igual manera en los adultos mayores el descenso gradual de la testosterona y de la hormona sexual sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA) (Leng et al., 2004; Perry et al., 2000) y de los estrógenos en las mujeres postmenopáusicas se ha asociado a la pérdida de masa y fuerza muscular, a la disminución de la masa ósea y disminución de la masa magra hasta en un 36%. Esta disminución se asocia a discapacidad y a pérdida de la fuerza muscular de los miembros inferiores (Morley et al., 2001; Borges y Menezes 2011).

La insulina y el IGF-1 tienen efectos selectivos a nivel mitocondrial del músculo para la síntesis proteica, la cual está disminuida en los adultos mayores (Morley 1999). La hormona del crecimiento (GH) y el IGF-1 juegan un papel importante en el mantenimiento de la masa muscular por lo que su deficiencia promueve la sarcopenia (Roubenoff y Hughes 2000; Payette et al., 2003), y sus niveles disminuidos predicen la mortalidad de esta población (Roubenoff et al., 2003). La GH es una hormona que estimula el apetito (Kaiser et al., 1991); no obstante, a pesar de que esta hormona aumenta también la masa muscular, su suplementación no se ha asociado a una mejoría en la fuerza muscular, además de que aumenta la mortalidad y el daño oxidativo (Hauck y Bartke 2001; Avila-Funes 2008). Tomando en cuenta todo lo anterior, los estudios sugieren el importante papel de las hormonas GH y IGF-1, del eje hipotalámico-pituitario-adrenal y otras hormonas en la patogénesis de la fragilidad.

Puts M. et al., 2005 describieron que en los adultos mayores de la comunidad existe una asociación positiva entre fragilidad y el incremento de los niveles de cortisol y sus variaciones diurnas. Niveles elevados de cortisol salival al final de la tarde se han observado en ancianos frágiles en comparación a los no frágiles sugiriendo una actividad crónica aumentada del eje hipotálamo-pituitario-adrenal (Varadhan R, et al., 2008).

El tejido adiposo, en especial la grasa visceral, produce citoquinas inflamatorias que aceleran el catabolismo del músculo y aumentan la infiltración de tejido graso en el mismo; lo que condiciona un alto riesgo de desarrollar síndrome metabólico, y dependencia funcional por la disminución de la fuerza muscular (Barzilay et al., 2007).

- Sistema músculo-esquelético:

Dado que la debilidad muscular y la disminución en el rendimiento físico son características cardinales en el síndrome de fragilidad, la sarcopenia es la llave de la fisiopatología del mismo. De hecho, varios investigadores en Europa y Asia consideran que la investigación sobre sarcopenia es el primer paso y el más útil para estudios de intervención sobre el síndrome de fragilidad (Rockwood K y Bergman H. 2012; Liu LK, et al., 2013).

Sarcopenia viene del griego “sarx” que significa carne y “penia” significa pérdida o pobreza (Roos M., et al., 1999). Así, se define como la pérdida de masa, fuerza muscular y cambios cualitativos del tejido muscular, que ocurre rápidamente después de los 50 años. Puede acelerarse por enfermedades crónicas y es el mayor responsable de la discapacidad. Sus causas incluyen los cambios relacionados con la edad, en las motoneuronas alfa, en las fibras musculares tipo I y II, atrofia muscular, factores genéticos, nutrición inadecuada, disminución en la producción de la hormona de crecimiento, bajos niveles de las hormonas sexuales, actividad física; el estrés oxidativo y el estado de inflamación crónica que contribuye al catabolismo proteico (Fried et al., 2005; Lipsitz L., 2002; Ferrucci 2002; Sternberg S. et al., 2013; Waters DL, et al., 2003).

Según varios autores sarcopenia se refiere a la pérdida de la masa muscular apendicular esquelética menor a dos desviaciones estándar debajo del promedio en personas jóvenes sanas, corregida para la superficie corporal, en metros cuadrados (Rosenberg 1989; Baumgartner et al., 1998; Roubenoff y Hughes 2000). Con este punto de corte, su prevalencia es del 13 al 24% entre los 65 y 70 años, y mayor del 50% en los mayores de 80 años (Avila-Funes 2008).

La función y composición del sistema músculo- esquelético decae con la edad (Williams G et al., 2002; Kent-Braun et al., 2000). De los 20 a los 80 años, la masa muscular sufre una reducción de hasta un 30%, y la fuerza muscular parece tener su máximo entre los 25 y 35 años, después se mantiene o baja ligeramente entre los 40 y 59 años llegando a disminuir entre 12 y 15% por cada década después de los 50 años llegando a un 30% por cada década posterior (Frontera W., et al., 2000; Evans W., 2010). Estas tasas son más altas en individuos sedentarios, así como en los hombres en comparación con las mujeres (Rolland 2008, Lang T, et al., 2010). La fuerza muscular de las extremidades inferiores disminuye en un 3% anualmente y se ha observado que la potencia muscular es menor en los adultos mayores en un 20-40% en comparación a los adultos jóvenes (Hughes VA, et al., 2001). La fuerza muscular de los miembros inferiores se debe valorar en los flexores y extensores de la rodilla, sin embargo, en la práctica clínica no es aplicable a todos los pacientes, por lo cual se utiliza el dinamómetro para medir la fuerza de prensión y que se ha sugerido que ésta representa a la fuerza muscular de los miembros inferiores (Aadahl M, et al., 2011).

La pérdida de la capacidad de generación de fuerza muscular aumenta después de los 60 años de manera que a los 80 años la pérdida es ya considerable, así como sus consecuencias para la movilidad funcional (Fiatarone M., et al., 1994; Roos M., et al., 1999). Esto se debe principalmente a una reducción de la masa muscular de aproximadamente un tercio entre los 50 y 80 años como parte del proceso normal del envejecimiento (Borst S., 2004).

Después de los 30 años se da una disminución en las áreas transversales del músculo, un descenso en la densidad muscular y un aumento en la grasa intramuscular. El proceso de envejecimiento trae consigo una disminución en la producción de la fuerza máxima lo que dificulta la realización de las tareas que antes hacíamos fácilmente y además reduce la velocidad refleja, todo esto condiciona la dependencia de las personas mayores (Fleg J y Lakatta E., 1988; Vandervoort A. y Hayes K., 1989; Häkkinen K., et al., 1995).

La disminución y atrofia muscular se produce de manera más acentuada a nivel de las fibras musculares tipo II, son de contracción rápida con alta capacidad glicolítica en comparación con las fibras tipo I de contracción lenta. Además, hay pérdida del estímulo de inervación de la motoneurona alfa lo cual explica la atrofia progresiva y la pérdida de las fibras musculares. Estos cambios disminuyen la fuerza, función muscular y la tolerancia al ejercicio del 0.5% por año después de los 35 años; la falta de actividad física acelera el proceso. De esta manera existe mayor riesgo de caídas y como consecuencia de lesiones como las fracturas provocando pérdida de la funcionalidad y discapacidad en el anciano (Burgos P., 2006). Por otra parte, la aterosclerosis es un estado que favorece la alteración en la perfusión a nivel de los miembros inferiores, y a su vez disminuye la irrigación de nervios y músculos lo que agrava la sarcopenia y disminuye la disponibilidad del oxígeno en los músculos (Morley 2003). Las consecuencias de la pérdida de la fuerza atribuida a la pobre calidad y cantidad de fibras musculares van más allá, puesto que la sarcopenia se asocia a una tasa metabólica baja, alteraciones de la termo-regulación, aumento a la resistencia a la insulina y favorece un estado catabólico (Roubenoff y Hughes 2000).

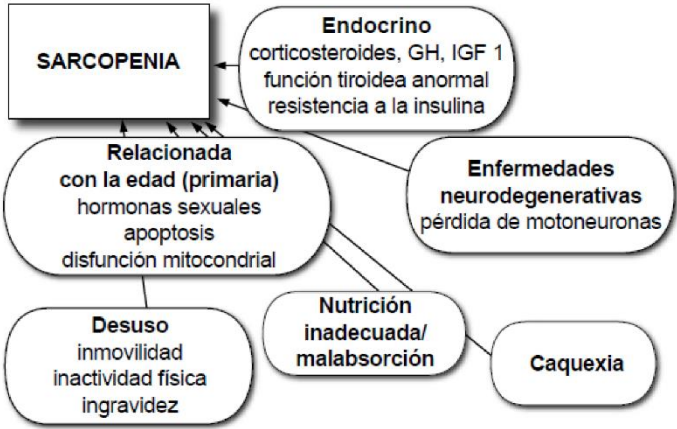


Figura 5. Mecanismos de Sarcopenia (Rolland Y., et al., 2008)

El grupo Europeo de Trabajo sobre la Sarcopenia en Personas de edad Avanzada (European Working Group on Sarcopenia in older People (EWGSOP)) en el año 2010 publicó un documento en el que se exponía una definición clínica práctica y unos criterios diagnósticos de consenso de la sarcopenia relacionado con la edad. Así pues, el diagnóstico requiere la confirmación del criterio uno así como la del criterio 2 y criterio 3. La justificación del uso de dos criterios es que la fuerza muscular no depende exclusivamente de la masa muscular y la relación entre fuerza y masa no es lineal.

Tabla 2. Criterios diagnósticos de la sarcopenia según EWGSOP

El diagnóstico se basa en la confirmación del criterio 1 más (el criterio 2 o el criterio 3)
.....
1. Masa muscular baja
2. Menor fuerza muscular
3. Menor rendimiento físico

Además, se propone una clasificación por estadios, distinguiéndose entre presarcopenia (criterio 1), sarcopenia (criterio 1+ 2 o 3) y sarcopenia grave (criterios 1+2+3) (Cruz-Jentoft A., et al., 2010).

Uno de los factores de riesgo para desarrollar sarcopenia en ancianos es la relación entre las concentraciones bajas de vitamina D y niveles elevados de paratohormona (PTH). La PTH también posee efectos trópicos sobre el músculo, incrementando el metabolismo proteico (Visser M., et al., 2003). La sarcopenia y el nivel de 25-hidroxivitamina D se utiliza como un indicador de fragilidad en las personas mayores (Ohta H., et al., 2009). Shardell describe que los niveles bajos de vitamina D contribuye a la fragilidad particularmente en los hombres (Shardell M., et al., 2009).

- Estado Nutricional.

Los adultos mayores pueden presentar alteraciones nutricionales hasta en un 30% y puede ser secundaria a enfermedad o inactividad física con una ingesta proteica menor a la recomendada de 0.8 g/kg/día. Las mujeres frágiles presentan una ingesta baja de calorías 21 kcl/kg, así como de micronutrientes especialmente de carotenoides totales (beta caroteno y luteína) junto con el consumo bajo de proteínas y vitaminas D, E, C y ácido fólico. La malnutrición, que es muy frecuente en la población geriátrica, es uno de los principales factores de riesgo para la aparición de fragilidad. Un buen estado nutricional y, la suplementación con micronutrientes y macronutrientes cuando sea necesario, reducen el riesgo de desarrollar fragilidad (Artaza-Artabe I., et al., 2016).

Un estudio de cohorte prospectivo realizado por Lana A. y colaboradores, recomiendan que los adultos mayores consuman diariamente productos bajos en grasa, en particular leche y yogurt, ya que este consumo se asocia con bajo riesgo de fragilidad a 3.5 años de seguimiento. Esta asociación sobre todo es debido al bajo riesgo de marcha lenta y pérdida de peso. Las recomendaciones actuales para prevenir la fragilidad es el consumo diario de suplementos de proteínas, por lo tanto, a pesar de que es necesario más investigaciones al respecto, el consumo diario de leche y yogurt bajo en grasa podría prevenir la fragilidad en los adultos mayores ya que el calcio y la proteína de la leche podrían retrasar la sarcopenia y la pérdida de masa ósea (Bonjour J-P., et al., 2013; Lana A., et al., 2015).

La pro-vitamina D o colecalfiferol es una pro-hormona fundamental para la regulación del balance de calcio-fósforo y del metabolismo óseo en el organismo. El receptor nuclear de la vitamina D está ampliamente distribuido por numerosos tejidos orgánicos, además de la clásica función a nivel óseo, actúa también en el sistema cardiovascular, en el metabolismo lipídico y glucídico, sistema respiratorio, cerebral y sistema muscular (Bernal Pérez M., et al., 2010; Janssen HCJP, et al., 2002). El déficit de vitamina D es endémico en la población anciana, y está asociada con la pérdida de masa ósea, y masa muscular principalmente de la musculatura proximal, y por tanto mayor riesgo de caídas y fracturas (Glerup H., et al., 2000; Wicherts IS., et al., 2007).

1.2.4 PRESENTACIÓN CLÍNICA.

Para Yeolekar y Sukumaran un caso clínico típico sería una mujer mayor con obesidad sarcopénica caracterizada por aumento de la grasa corporal especialmente central y disminución de la masa muscular (cambios en la composición del cuerpo), con muy baja tolerancia al ejercicio y extrema fatiga (fallo energético), insulina alta, bajo IGF-1, ingesta inadecuada de calorías, bajos niveles de vitamina D, E y carotenoides (señal de desregulación), problemas de memoria, marcha lenta y problemas de equilibrio (neurodegeneración). Los síndromes geriátricos que incluye incontinencia, delirium, caídas, úlceras por presión, desordenes del sueño, problemas para la ingesta alimentaria, dolor, depresión, demencia y discapacidades físicas deben ser considerados como consecuencias del fenotipo de fragilidad (Yeolekar M. y Sukumaran S. 2014).

Para la evaluación de la fragilidad en la práctica clínica se sugiere tomar en cuenta la movilidad, el estado de ánimo, nivel cognitivo, nivel de energía física, fuerza muscular y actividad física (Sourial N., et al., 2013). El médico debe estar alerta ante la presencia de una combinación de síntomas específicos como debilidad, pérdida de peso, fatiga, marcha lenta y baja actividad física, ya que

cuando tres o más de estas manifestaciones están presentes, el paciente tiene alto riesgo de ser paciente frágil, lo que conlleva a una pobre funcionalidad en las actividades de la vida diaria incluyendo habilidades locomotoras, enfermedades cardiovasculares, cáncer, caídas y mortalidad (Rockwood 2011; Cruz-Jentoft AJ., 2013).

El principal interés en el concepto de fragilidad es su carácter reversible. Los pacientes diabéticos, hipertensos, con enfermedad renal crónica y similares tiene alto riesgo de desarrollar fragilidad; las intervenciones se deben centrar en identificar los factores determinantes de fragilidad para poder prevenir la transición de fragilidad a discapacidad (Gill T., et al., 2006). La identificación y evaluación de la fragilidad es una cuestión de dominio múltiple que incluye: capacidad aeróbica cardiopulmonar, función y fuerza musculoesquelética, función cognitiva, función neurológica integral teniendo en cuenta el equilibrio y la marcha y por último el estado nutricional (Conroy S., 2009). Un enfoque integral es necesario ya que de esta manera se aborda tanto la enfermedad aguda precipitante como la pérdida subyacente de la función de los diferentes sistemas.

1.3 OSTEOPOROSIS.

1.3.1 DEFINICIÓN.

La osteoporosis (OP) es la enfermedad metabólica ósea más frecuente. A lo largo del tiempo se han desarrollado varias definiciones, y hoy en día, la definición aceptada es la del National Institute of Health (NIH) que la define como una enfermedad de todo el esqueleto caracterizada por una masa ósea baja y una alteración de la microarquitectura ósea que condiciona un hueso frágil, con el consecuente incremento del riesgo de fracturas (NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. JAMA. 2001).

El problema de su definición estriba en su complicada y aún no del todo conocida fisiopatología, y en sus diversos mecanismos etiopatogénicos. La alteración de la microarquitectura se caracteriza por la pérdida, adelgazamiento y falta de conexión entre trabéculas óseas, además existen alteraciones en el remodelado óseo, la propia geometría del hueso, y otros, que se han agrupado bajo el concepto de calidad ósea. Todo ello produce un deterioro de la integridad estructural del hueso y favorece la fragilidad esquelética, lo cual conlleva un incremento del riesgo de fractura con un mínimo traumatismo, denominada fractura por fragilidad u osteoporótica (Sosa HE. y Díez PA., Medicine 2009). Su definición no permite la correcta identificación del paciente con OP, debido a la falta de criterio clínico al ser una enfermedad asintomática, por lo cual se han desarrollado a lo largo de los años varias herramientas diagnósticas, así, en los años 90 se introdujo la densitometría ósea (DXA) tras establecer la Organización Mundial de la Salud (OMS) criterios diagnósticos basados en estudios epidemiológicos de la densidad mineral ósea (DMO) basados en el T score (Blake GM., 2007). (Tabla 3)

Tabla 3. Criterios diagnósticos densitométricos de OP (OMS)**Criterios diagnósticos densitométricos de osteoporosis (Organización Mundial de la Salud)**

Osteoporosis	T-score > (- 2,5)
Osteopenia	T-score entre (- 2,5) y (- 1)
Normal	T-score > (- 1)

Los criterios de la OMS deben utilizarse para conocer la epidemiología de la osteoporosis, no para indicar medidas preventivas y terapéuticas. Además, esta clasificación incluye el término osteopenia, que además de no tener un sustrato clínico, puede generar temor y confusión entre los pacientes al considerarla como un estado previo a la OP y a sufrir fracturas (Sosa Henríquez M., 2006).

1.3.2 EPIDEMIOLOGÍA.

La OP es un importante problema de salud pública, y su importancia va en aumento con el envejecimiento de la población, por lo que existirá un mayor número de personas con OP y por tanto de fracturas. Se prevé 6,3 millones de fracturas de cadera para el año 2050. Con respecto a las fracturas vertebrales, los estudios epidemiológicos son más complicados debido a la falta de clínica en muchos casos y a la no uniformidad en los criterios a la hora de definir una deformidad vertebral como fractura. La tendencia de tener una fractura vertebral aumenta con la edad, tanto en hombres como en mujeres, siendo más pronunciada en las mujeres (Cauley JA., 2013; Cooper C., et al., 2011).

En el año 2013 se publicó una revisión en la que se analizó los datos epidemiológicos de la OP en la Unión Europea, mostrando datos clínicos y económicos del año 2010. Los datos referentes a España, tomando como población en riesgo a hombres y mujeres mayores de 50 años (7.277.000 y 8.628.000 respectivamente), muestran una estimación de 2.450.000 de personas con OP, siguiendo los criterios densitométricos de la OMS. Al no existir datos más recientes, se realizó una estimación del riesgo de fractura en base a estudios previos, resultando que el número de fracturas en el año 2010 fue de 204.000 (40.000 fracturas de cadera, 30.000 fracturas clínicas vertebrales, 30.000 fracturas de antebrazo y 104.000 en otras localizaciones), teniendo lugar el 68 % de ellas en mujeres. En cuanto a la tendencia hasta el año 2025, se espera un incremento del 35 % de la población (de 15,9 millones a 21,5 millones de individuos mayores de 50 años). Se estimó que el número de fracturas aumentaría a 286.000 (40 % de incremento), de las cuales 16.700 serían fracturas de cadera, 11.500 fracturas vertebrales, 10.000 fracturas de antebrazo y 43.500 de otras localizaciones. El incremento en el número de fracturas oscilaría entre el 34 y el 42 %, según la localización, se ha estimado que será particularmente marcado en los hombres (49 %) comparado con las mujeres (36 %). Los autores prevén que en la Unión Europea en general, los costes aumenten un promedio del 25 % en 2025. Además, señalan que la mayoría de los individuos con fractura osteoporótica o con alto riesgo de sufrirla no están tratados, y que el número de pacientes en tratamiento está descendiendo (Svedbom A., et al., 2013).

González López-Valcárcel y Sosa en el año 2013 realizaron un trabajo en el cual utilizaron la herramienta Q fracture® para estimar el riesgo de fractura a 10 años en la población española, con los datos de la Encuesta Nacional de Salud del 2006, se estimó que un total de 552.879 mujeres y 161.922 varones sufrirán una fractura osteoporótica en los próximos 10 años, la mayoría se producirán a partir de los 70 años. La estimación de las fracturas de cadera en los próximos 10 años las sufrirá 263.351 mujeres, de las cuales la mitad se producirá a partir de los 77 años, y 84.213 varones.

1.3.3 FACTORES DE RIESGO.

Para evitar confusiones, deben separarse los factores de riesgo relacionados con la densidad mineral ósea (DMO), de los factores de riesgo de fractura, que son aspectos clínicos y que son más útiles para identificar pacientes que pueden beneficiarse de intervenciones terapéuticas. Entre los factores de riesgo más relevantes están la edad, los antecedentes personales y familiares de fractura, el bajo índice de masa corporal, o el tratamiento a largo plazo con altas dosis de corticoides (McCloskey E., 2013). (Tabla 4)

Tabla 4. Factores de riesgo de fractura osteoporótica (Sosa Henríquez M, 2014)

Factores de riesgo de fractura osteoporótica
Edad*
Baja DMO*
Antecedentes paternos/maternos de fractura de cadera*
Antecedentes personales de fractura por fragilidad*
Bajo IMC (< 20 kg/m ²)
Historia de caídas
Terapia corticoidea frecuente o habitual (≥ 3 meses con ≥ 7,5 mg/día de prednisona o equivalente)*
Menopausia precoz
Inmovilización prolongada
Baja ingesta de calcio
Déficit de vitamina D
Tabaquismo
Alta ingesta de alcohol (> 3 unidades diarias)
Alta ingesta de café
Enfermedades que originen osteoporosis secundaria (diabetes mellitus, artritis reumatoide, síndrome de malabsorción, hipertiroidismo, hiperparatiroidismo, hipogonadismo, anorexia nerviosa, enfermedades hepáticas, colagenosis, etc.)
Fármacos (benzodiazepinas, antiepilépticos)
DMO: densidad mineral ósea; IMC: índice de masa corporal.
*Factores de alto riesgo.

La National Osteoporosis Foundation (NOF) considera útiles 5 factores de riesgo para desarrollar fractura que se deben aplicar en la práctica clínica. Éstos son: la DMO, la historia previa de fracturas, la historia familiar de fracturas, el bajo peso y el hábito tabáquico activo (NOF 2003). La historia previa de fractura es el factor más objetivable y de mayor importancia clínica. Probablemente sea más práctico clasificar los factores de riesgo en modificables y no modificables, independientemente de que sean factores asociados a la OP o a la fractura, para de esta manera incidir en los modificables

con medidas preventivas o terapéuticas (Gass M., et al., 2006; González-Macías J., et al., 2004; Carranza-Lira S., et al., 2002). (Tabla 5)

Tabla 5. Factores de riesgo para la osteoporosis (Sosa 2009).

No modificables	Modificables
Edad	Actividad física escasa: sedentarismo
Sexo (mujer)	Escasa ingestión de calcio
Genética	Dieta hiperproteica
Menopausia	Tabaco
Hipogonadismo	Abuso de alcohol
Enfermedades:	Abuso de café
Endocrinas: Cushing, hiperparatiroidismo primario, hipertiroidismo	Delgadez (IMC < 19 kg/m ²)
Reumatológicas: artritis reumatoide	Corticoides
Nutricionales: malnutrición, anorexia nerviosa	Inmunosupresores
Digestivas: celiaquía, hepatopatías severas	Anticoagulantes
Neoplásicas: mieloma múltiple	Heparina

IMC: índice de masa corporal.

De esta manera surgen las “escalas de riesgo” que pretenden identificar a aquellos pacientes con alto riesgo de fractura y, por tanto, con OP. Hoy en día se prefiere este enfoque “multifactorial” hacia la valoración del riesgo de fractura, siendo la baja DMO un factor de riesgo más; aunque de gran peso (siendo su medición por densitometría ósea (DXA) aún la herramienta única para establecer el diagnóstico de OP) pero no el único (Jódar Gimeno E., 2010; Schousboe JT., et al., 2013). Por esta razón, y por la necesidad de evaluar el riesgo individual de fractura, se idearon la escala FRAX® y la escala QFracture® que explicaremos más adelante.

1.3.4 FISIOPATOLOGÍA Y ETIOPATOGENIA.

Gracias al mejor conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad se han logrado grandes avances en su tratamiento. Los elementos participantes en el remodelado óseo y su función dentro del mismo son la clave para entender el modo en que su alteración llega a producir OP. No sólo las células óseas (osteoblastos, osteoclastos y osteocitos), sino también los sistemas de comunicación entre ellas (citoquinas) o provenientes de otros órganos (hormonas) han sido objeto de descubrimientos muy importantes en los últimos años (González Macías J., et al., 2010; Kular J., et al., 2012). La OP es el resultado de una alteración en el remodelado óseo debido a un desequilibrio entre la formación y la resorción ósea, con predominio de esta última, que conduce tanto a la pérdida de masa ósea como al desarrollo de las alteraciones microestructurales que se denomina calidad ósea (Seeman E., 2002).

La pérdida ósea se encuentra ligada a dos factores: la menopausia y el envejecimiento. La deficiencia de estrógenos se considera el mecanismo central de la OP posmenopáusica, sin embargo, no se conoce la fisiopatología exacta por la cual la deficiencia de estrógenos origina pérdida ósea. Las

células óseas presentan receptores de estrógenos, y la deficiencia estrogénica origina un desequilibrio del remodelado óseo con predominio neto de la resorción. Estos efectos directos sobre el hueso se explican a través de cambios en determinadas citocinas y factores de crecimiento en el microambiente óseo. Así, la deficiencia de estrógenos es la responsable de la fase transitoria de pérdida ósea acelerada característica de la primera etapa de la posmenopausia. En este período, de 8-10 años de duración, una mujer puede llegar a perder entre el 20-30% de su masa ósea trabecular y el 5-10% de su masa ósea cortical (Seeman E., 2002). Algunos estudios sugieren que la deficiencia de estrógenos puede tener una participación significativa en fases avanzadas de la vida regulando la homeostasis cálcica extraesquelética. Los estrógenos pueden modular el balance cálcico favoreciendo su absorción intestinal y limitando su eliminación renal. Además, se ha descrito una influencia activa de los estrógenos en el metabolismo de la vitamina D y su capacidad para disminuir la reserva secretora de PTH. Este conjunto de datos ha hecho surgir un modelo unitario de OP involutiva en el que la deficiencia de estrógenos desempeña un papel central (Riggs BL., et al., 1998).

Durante la cuarta o quinta década de la vida comienza la pérdida ósea relacionada con el envejecimiento y se prolonga durante el resto de la vida. En esta fase las pérdidas se estiman en un 20-30% de hueso cortical y trabecular y son de similar magnitud en mujeres y varones. La existencia de un balance negativo del calcio y cierto grado de hiperparatiroidismo secundario han sido los mecanismos patogénicos, ligados a la pérdida ósea propia del envejecimiento (NOF 2003; Seeman E., 2002).

En relación con la OP del varón, el hipogonadismo se considera un importante factor de riesgo, si bien no el único (Izumotani K., et al., 2003). Varios estudios publicados sobre trastornos genéticos raros, que cursan con resistencia a estrógenos, han puesto de manifiesto la importancia de estas hormonas en el metabolismo óseo del varón. Estos hallazgos se corresponden con análisis poblacionales recientes que muestran, de forma consistente, que la pérdida ósea en varones relacionada con la edad se vincula más estrechamente con la disminución de los niveles de estrógenos que de andrógenos (Sosa HE., 2009).

La interacción entre la masa muscular y la densidad y estructura ósea es compleja, depende de múltiples factores moleculares, físicos y hormonales. La pérdida de fuerza y masa muscular durante el envejecimiento provoca cambios estructurales en la microarquitectura de los huesos y disminución en la DMO, resultando en un hueso defectuoso en calidad, aumentando así el riesgo de fractura. La baja ingesta de alimentos, el bajo peso corporal, el agotamiento de la proteína visceral, los bajos niveles de albúmina y vitamina D, la falta de actividad física, el hábito tabáquico, se han relacionado con la baja densidad ósea y sarcopenia (Dreyer HC. 2005; Prentice A., 2002).

En las personas de edad avanzada que presentan insuficiencia de vitamina D, la suplementación con la misma reduce la pérdida de hueso, mejora el rendimiento muscular y disminuye el riesgo de caídas, de esta manera los efectos combinados de la vitamina D sobre el hueso y músculo, tienden a reducir el riesgo de fractura. En las investigaciones realizadas no se ha identificado la concentración sérica necesaria de vitamina D para la función muscular en los ancianos, pero los estudios realizados hasta la fecha indican que es ≥ 65 nmol/l; para la reducción del riesgo de fracturas los niveles requeridos mínimos son de 75 nmol /l (Dawson-Hughes B., 2008).

1.3.5 PRESENTACIÓN CLÍNICA

La OP es una enfermedad asintomática, las manifestaciones clínicas aparecen cuando tienen lugar las fracturas. Las fracturas osteoporóticas se diferencian del resto en que se producen principalmente en lugares característicos (columna vertebral dorso-lumbar, muñeca y cadera) y en que ocurren ante un mínimo traumatismo, la mayoría de las veces por una simple caída desde una situación de bipedestación. Por su localización suelen clasificarse de modo más general en fracturas vertebrales (las más frecuentes) y no vertebrales (el resto). Entre las no vertebrales se incluyen las de antebrazo (fractura de Colles) y fémur proximal (las más características), junto con las de húmero, pelvis, tibia y costillas, entre otras. Se producen después de los 50 años a diferencia de las traumáticas, más frecuentes en edades más tempranas. En cuanto a sus manifestaciones clínicas, no difieren de las de las otras fracturas de distinta etiología: dolor, impotencia funcional y deformidad (Compston J., 2009; Sosa HE., 2009).

Fractura de cadera y antebrazo.

Ambas fracturas muestran la clínica típica de las fracturas óseas, ocurre casi siempre como consecuencia de una caída y suelen precisar de intervención quirúrgica. La fractura de cadera es la más grave, es la de mayor tasa de mortalidad 20-30 % en el primer año (Johnell O., et al., 2005). Tiene repercusiones que son inmediatas tras la propia fractura, como son la intervención quirúrgica en el 80% de los casos y, en general, una elevada estancia hospitalaria, sin embargo, las repercusiones no se limitan a su tratamiento hospitalario, sino que la calidad de vida de los pacientes se deteriora en gran medida. Así, la mayoría tienen discapacidad residual y un porcentaje de casos pierde la capacidad de llevar una vida independiente. Por ejemplo, sólo una quinta parte de los pacientes que caminaban sin ayuda antes de la fractura lo hacen 6 meses después. El pronóstico depende, en parte, de la capacidad funcional previa a la fractura (Johnell O., et al., 2006; Sosa Henríquez M., 1997).

La fractura de antebrazo, menos frecuente que las otras, puede dejar cierto grado de discapacidad funcional por dolor residual, afectación neurológica o artritis postraumática, además, es un factor de riesgo significativo para la futura presentación de fracturas vertebrales o de cadera

Fracturas Vertebrales.

Son las fracturas osteoporóticas más comunes, afectan a más del 40% de las mujeres de ≥ 80 años. Están asociadas a varios efectos adversos como el dolor de espalda, deterioro físico, aumento de riesgo de presentar más fracturas osteoporóticas y disminución de la expectativa de vida (Klotzbuecher C., et al., 2000; Cooper C., et al., 1993).

Su forma de presentación clínica típica es el dolor agudo, intenso y localizado que puede en ocasiones irradiarse a las costillas (si se trata de vértebras dorsales) o piernas (fractura de vértebras lumbares). Frecuentemente es ocasionada por un esfuerzo mecánico (levantar peso, movimiento de torsión con carga o flexión del torso), si bien en ocasiones puede no haber motivo aparente. La intensidad del dolor (que puede llegar a ser incapacitante en un primer momento) suele disminuir a partir de las 2-3 primeras semanas, para llegar a desaparecer al cabo de 2-3 meses. Además, ocasionan una reducción de la talla y una alteración de la estática de la columna vertebral, con cifosis, acortamiento del tronco y rectificación de la lordosis lumbar, según la localización de la vértebra fracturada. Alrededor del 60 % de las fracturas vertebrales son asintomáticas, y se ponen

de manifiesto como un hallazgo casual ante una exploración radiológica de columna lumbar o dorsal (Gehlbach SH., et al., 2000).

Las fracturas vertebrales asintomáticas (morfométricas) y sintomáticas pueden ser diagnosticadas usando el método semicuantitativo de Genant, el cual requiere una disminución mayor o igual al 20% en la altura de la vértebra (dimensiones anterior, media o posterior) (Genant, et al., 1993).

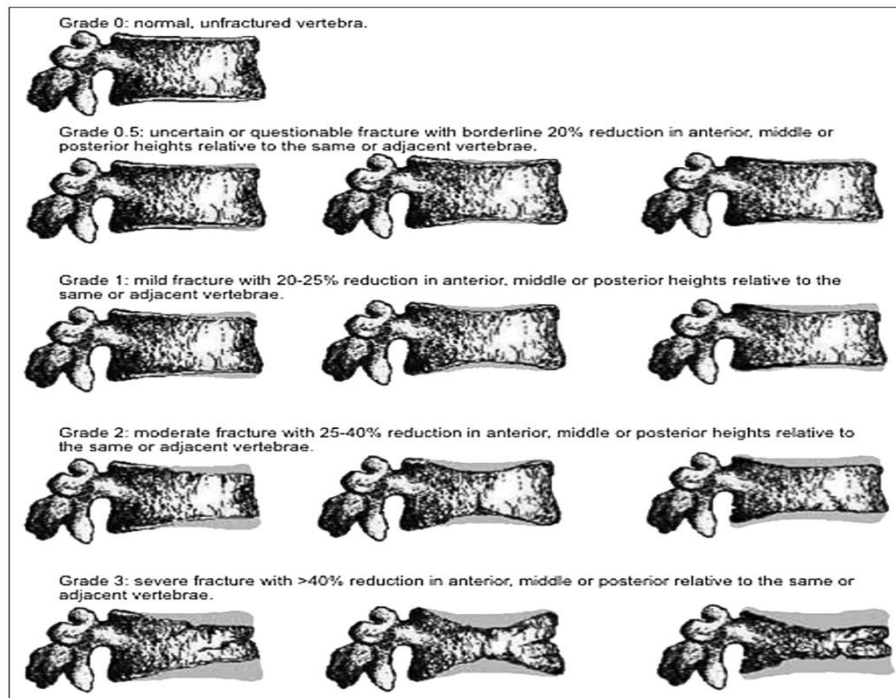


Figura 6. Clasificación de las fracturas vertebrales según el método semicuantitativo de Genant.

El diagnóstico también se puede realizar con el método estándar cuantitativo morfométrico o comparando la altura del cuerpo vertebral con la vértebra adyacente, de esta manera una fractura es considerada si hay una diferencia de 3DE (desviación estándar) en la altura de los cuerpos vertebrales adyacentes (McCloskey EV., et al., 1993). Otro método para diagnosticar fracturas vertebrales es el basado en el algoritmo cualitativo identificando deformidad a nivel del platillo vertebral (Ferrar L., et al., 2005).

Es importante tomar en cuenta a la hora de comparar estudios epidemiológicos o ensayos clínicos, el método utilizado para definir fractura vertebral, para poder interpretar los resultados, ya que hay diversidad en los criterios de estudio para fracturas vertebrales. La incidencia y prevalencia de los estudios epidemiológicos varía según la población y la definición de fractura vertebral. Así, el estudio Canadiense Multicentro de Osteoporosis describe que el 21.5% de hombres y el 23.5% de mujeres sobre los 50 años de edad tiene al menos una deformidad vertebral por compresión, mientras el estudio Noruego encontró que el 20.3% de hombres y el 19.2% de mujeres mayores de 70 años tenían al menos una fractura vertebral. Un cuarto de las mujeres mayores de 50 años en Rochester,

Minnesota presentaba una o más fracturas vertebrales, al igual que un tercio de las mujeres mayores de 70 años. Su prevalencia en España se estima entre 17% y el 23% en mujeres mayores de 50 años y algo menos en varones de la misma edad. A pesar de su alta prevalencia más de dos tercios de las fracturas no son diagnosticadas (Cooper C., et al., 1993). En el estudio SOF (estudio de fracturas osteoporóticas) el 18% de las mujeres posmenopáusicas mayores de 65 años sufrieron una fractura vertebral incidente durante los 15 años de seguimiento. Entre el 10 % y 28% de las pacientes con fracturas vertebrales presentaban una DXA con un valor de T score > -2.5 (Kendler DL., et al., 2016).

Un trabajo más reciente estudió la prevalencia e incidencia de las fracturas vertebrales a nivel mundial, describiendo que la prevalencia en mujeres europeas es más alta en Escandinavia (26%) y menor en Europa del Este (18%). En Norte América en mujeres blancas de ≥ 50 años es de 20-24% y en mujeres latinoamericanas de ≥ 50 años es mucho menor que en Europa y Norte América (11-19%). En Asia la prevalencia en mujeres de ≥ 65 años es más alta en Japón (24%) que en Indonesia (9%) y que en Líbano (20%). La relación más baja y más alta entre países y entre continentes varía desde 1.4-1.6. Los datos de incidencia son más heterogéneos y escasos. En estudios de pacientes hospitalizados y pacientes ambulantes con fractura vertebral demuestran una incidencia más alta en Corea del Sur, USA y Hong Kong y más bajas en UK (Ballane G, et al., 2017).

Tanto las fracturas vertebrales sintomáticas como asintomáticas son un factor de riesgo para desarrollar más fracturas. En el estudio SOF las mujeres que presentaban fractura vertebral prevalente tenían 3 veces más el riesgo de desarrollar una fractura vertebral incidente (Ferrar L., Jiang G., et al., 2005). Además, existe un elevado riesgo de nueva fractura en cualquier localización si ya se ha presentado clínicamente una fractura vertebral (Johnell O., et al., 2004; van Geel TA., et al., 2010). El riesgo aumenta con el número y severidad de las fracturas vertebrales prevalentes. Los pacientes con múltiples, graves y recientes fracturas vertebrales son generalmente sintomáticos y tiene fracturas clínicamente reconocidas (Fink HA., et al., 2005).

Kado D y colaboradores, realizaron un estudio de cohorte prospectivo en 7233 mujeres ≥ 65 años, que participaron en el estudio SOF, y presentaban fracturas vertebrales incidentes (después del inicio del estudio) valoradas por radiografía lateral de columna vertebral y concluyeron que presentaban mayor riesgo de mortalidad global; que lo explican por un bajo peso y por una disminución de actividad física. Sin embargo, consideraron que las fracturas vertebrales incidentes no causan directamente la muerte, sino que son un marcador de mayor riesgo para resultados adversos incluyendo futuras fracturas osteoporóticas (Kado et al., 2003).

La Sociedad Internacional de Densitometría Clínica recomienda realizar una radiografía lateral de la columna vertebral en los pacientes con una DMO con T score ≤ -1.0 y uno o más de los siguientes parámetros: mujeres ≥ 70 años, hombres ≥ 80 años, pérdida de altura de más de 4cm, uso de glucocorticoides más de 5mg de prednisona al día por más de 3 meses y/o auto-reporte de una fractura vertebral (no documentada). Además, recomienda investigar fracturas vertebrales en mujeres ≥ 70 años con una DMO normal, pero con otros factores de riesgo y signos de una probable fractura vertebral.

1.3.6 SÍNDROME DE FRAGILIDAD Y FRACTURAS

Los individuos frágiles y prefrágiles tienen mayor riesgo de caídas y por tanto de fracturas, esto es un hecho importante ya que las consecuencias a nivel de la salud como a nivel del costo sanitario son altos. Por lo tanto, es de gran importancia identificar a los individuos frágiles y prefrágiles realizando una valoración exhaustiva en la práctica clínica y la aplicación de la prevención de caídas (Frisoli A Jr., et al., 2010; Tom SE., et al., 2013).

Liu L. y colaboradores, realizaron un estudio en una población taiwanesa de adultos mayores y encontraron una fuerte asociación entre fragilidad y baja densidad mineral ósea, tanto en la columna vertebral lumbar como a nivel de la cadera, incluso después de ajustar los datos por edad, sexo, y clase funcional, lo que es compatible con estudios previos (Crepaldi G y Maggi S. 2005; Rolland Y et al., 2008; Sternberg S et al., 2014). Además, demostraron que las personas frágiles tienen mayor tendencia a las caídas, a la OP, así como a la sarcopenia e historia de fractura de cadera (Liu LK., et al., 2015).

Newton y colaboradores describieron que las personas con fragilidad presentaban una importante disminución en la densidad mineral ósea especialmente los individuos que tenían caídas recurrentes (Newton JL., et al., 2003). Cheung, et al., realizaron un estudio en mujeres chinas postmenopáusicas y encontraron que el riesgo de fracturas era independiente de las medidas de la densidad mineral ósea en los adultos mayores (Cheung EY., et al., 2012).

Ensrud, et al., encontraron que la asociación entre fragilidad y el riesgo de caídas, fracturas y muerte, era similar en mujeres ≥ 80 años y de 69 a 79 años. Además, la asociación entre fragilidad y caídas recurrentes fue aún más pronunciada para las mujeres mayores de 80 años que las mujeres de edad más jóvenes (Ensrud K., et al., 2007).

El estudio global, longitudinal de osteoporosis en mujeres, es un estudio de cohorte observacional y multinacional en el que se estudió mujeres ≥ 55 años de Australia, Norte América y Europa durante un año de seguimiento. En él se describe que las mujeres < 75 años de Estados Unidos tienen tendencia a la prefragilidad y fragilidad en comparación con las provenientes de Europa, Australia y Canadá ($p < 0,001$). Sin embargo, las mujeres de ≥ 75 años tienen la misma tendencia a la fragilidad en todas las zonas geográficas estudiadas. Se concluye que hay una gran evidencia de que el fenotipo de fragilidad está asociado con mayor riesgo de fractura, discapacidad y caídas en las mujeres > 55 años en 10 países, con modelos similares para la edad y la región geográfica. La fragilidad en las mujeres mayores es un factor de riesgo generalizable al mundo entero y las mujeres de todas las edades pueden beneficiarse de la intervención sobre los componentes de la fragilidad (Tom S., et al., 2013).

El SOF, un estudio de cohorte prospectivo, en el que se compara la validez predictiva entre el índice de fragilidad de Fried con el índice SOF, este índice utiliza como parámetros para valorar la fragilidad: la pérdida de peso, la incapacidad para levantarse de una silla sin apoyo por 5 ocasiones y la disminución del nivel de energía. Se clasificó a las mujeres en frágiles, prefrágiles y robustas utilizando cada índice. Se concluye que los dos índices son igual de útiles para predecir el riesgo de caídas, discapacidad, fracturas y muerte. Además, se encontró que las mujeres frágiles presentaban una DMO baja en comparación con las mujeres no frágiles o robustas; con respecto al riesgo de fractura de cadera fue de 1.7 a 1.8 veces mayor en las mujeres frágiles y el riesgo de cualquier

fractura no vertebral fue de 1.5 veces, sin embargo, no se demostró la asociación entre OP y pacientes frágiles fracturadas (Ensrud K., et al., 2008; Ensrud K. 2009).

Gerdhem realizó un estudio de corte transversal en 993 mujeres suecas seleccionadas al azar de 75 años de edad, en el que no encontró relación entre fragilidad definida como una impresión subjetiva del estado general de salud del individuo y OP expresada por DMO. Esto puede indicar que la fragilidad es un factor de riesgo para fractura, independiente de la masa ósea, sin embargo, hay que tomar en cuenta que se utilizó una definición no validada de fragilidad en este estudio (Gerdhem P., et al., 2003). Del mismo modo Frisoli en un estudio de cohorte transversal de 250 mujeres de edad avanzada no encontró una diferencia estadísticamente significativa en la DMO en los diferentes estadios de fragilidad según Fried, sin embargo, la probabilidad de ser frágil fue más alta ante la presencia de sarcopenia y OP grave (Frisoli A Jr., et al., 2010)

Sternberg, et al., en un estudio prospectivo de 235 mujeres de edad avanzada residentes en la comunidad, demostraron que la fragilidad definida por la encuesta para ancianos vulnerables (Vulnerable Elders Surey VES) puede predecir una disminución en la DMO después de un año. El VES-13 es un auto-cuestionario de fragilidad con 13 preguntas que evalúan la edad, el estado de salud general y el grado de dificultad o incapacidad para realizar las actividades de la vida diaria. El rango de puntuación es de 0-10, considerando robusto entre 0-2 y frágil mayor a 3 (Strenberg SA., et al., 2014).

Kojima realizó una revisión sistemática y meta-análisis de los estudios prospectivos que evaluaban la asociación entre fragilidad y riesgo de fracturas, en personas de edad avanzada residentes en la comunidad. Describe que la fragilidad y pre-fragilidad son predictores importantes de las fracturas entre las personas de edad avanzada por lo cual tratar la fragilidad es fundamental para evitar o disminuir el riesgo de fractura (Kojima G., 2016).

La incidencia de las fracturas va en dependencia del género, así las fracturas en adultos jóvenes ocurren más en hombres y en adultos mayores en mujeres. El riesgo de fractura en mujeres sobre los 50 años es del 50% mientras que en los hombres de alrededor del 20% (Van Staa T., et al., 2001). Además, la incidencia de la discapacidad después de una fractura de cadera por fragilidad es alta, al igual que la mortalidad prematura tanto en hombres como en mujeres (Kiebzak G., et al., 2002; Abrahamsen B., et al., 2009). La diferencia de la alta incidencia en mujeres va a depender de factores intrínsecos como la estructura y la fuerza del hueso, así como del descenso rápido de las hormonas sexuales en la menopausia, al igual que depende de factores extrínsecos como el mayor riesgo de caídas (Stevens J., 2005). La incidencia de fracturas en hombres aumenta después de la edad de los 50 años sobre todo después de los 75 años. Los factores de riesgo de fractura en el hombre son los mismos que para la mujer: una DMO baja, historia familiar de fractura, hábito tabáquico, baja actividad física, y fractura después de los 50 años (De Laet C., et al., 2005; Lewis C., et al., 2007).

1.3.7 ABORDAJE DEL RIESGO DE FRACTURA PARA SU PREVENCIÓN.

Como se ha mencionado anteriormente hoy en día se prefiere un enfoque multifactorial hacia la valoración del riesgo de fractura, tomando en cuenta tanto la DMO como otros factores clínicos importantes, por eso se han desarrollado escalas de valoración de riesgo individual de fractura.

Densidad Mineral Ósea.

La DXA se ha demostrado segura, apropiada, exacta y reproducible, y en la actualidad es la técnica más utilizada. La DMO medida mediante DXA constituye la base de la definición de OP de la OMS y es un conocido factor de predicción de fractura, con un aumento del riesgo en un múltiplo de 1,5 – 3 o más por cada desviación estándar en mujeres postmenopáusicas pero que también son aplicables a los varones (Riggs BL., 1995).

La DMO es versátil ya que hace posible realizar mediciones en los lugares de mayor importancia clínica, como las localizaciones lumbares y femorales. Sus medidas son precisas con una exposición a radiación mínima, por lo que se considera actualmente la prueba o patrón oro en el diagnóstico de OP. Las desventajas mayores de la DXA son el tamaño del equipo, que no es portátil y su coste relativamente elevado.

En 1994 el grupo de estudio de la OMS estableció una definición clínica de OP postmenopáusica basada en mediciones de la DMO expresada en unidades de desviación estándar (DE) llamadas T score que continúa en vigencia actualmente (Kanis JA., 1994). El T score se calcula considerando la diferencia entre la medida de la DMO en el paciente y la media de DMO en adultos jóvenes sanos del mismo género y grupo étnico en relación con la desviación estándar (DE) de esta medida en adultos jóvenes ($T\ score = DMO\ medida - media\ DMO\ en\ adultos\ jóvenes / DE\ adultos\ jóvenes$). Un resultado T score indica la diferencia entre la DMO del paciente y el pico ideal de masa ósea conseguido por adultos jóvenes. Aplicando estos criterios se establecen las categorías diagnósticas clásicas: osteoporosis, osteopenia y normalidad (tabla 3). Esta clasificación se propuso con el objeto de identificar pacientes con alto, intermedio o bajo riesgo de fractura. Sin embargo, no hay un umbral claro definido por debajo del cual podamos decir que exista un incremento brusco en el riesgo de fractura (Cummings SR., et al., 1993).

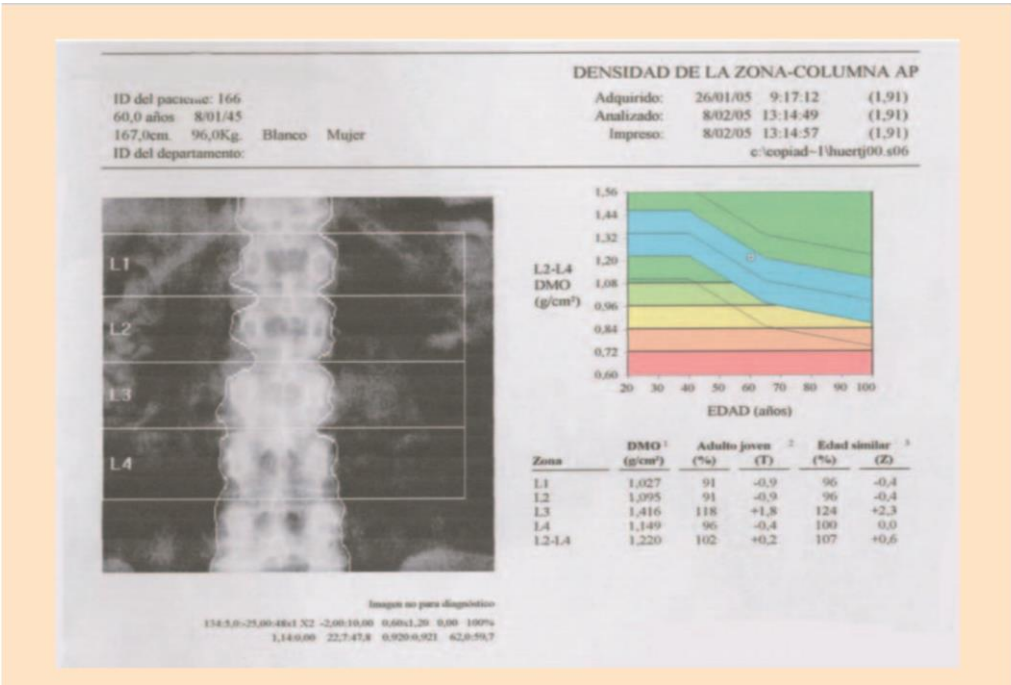


Figura 7. Imagen de una densitometría de columna.

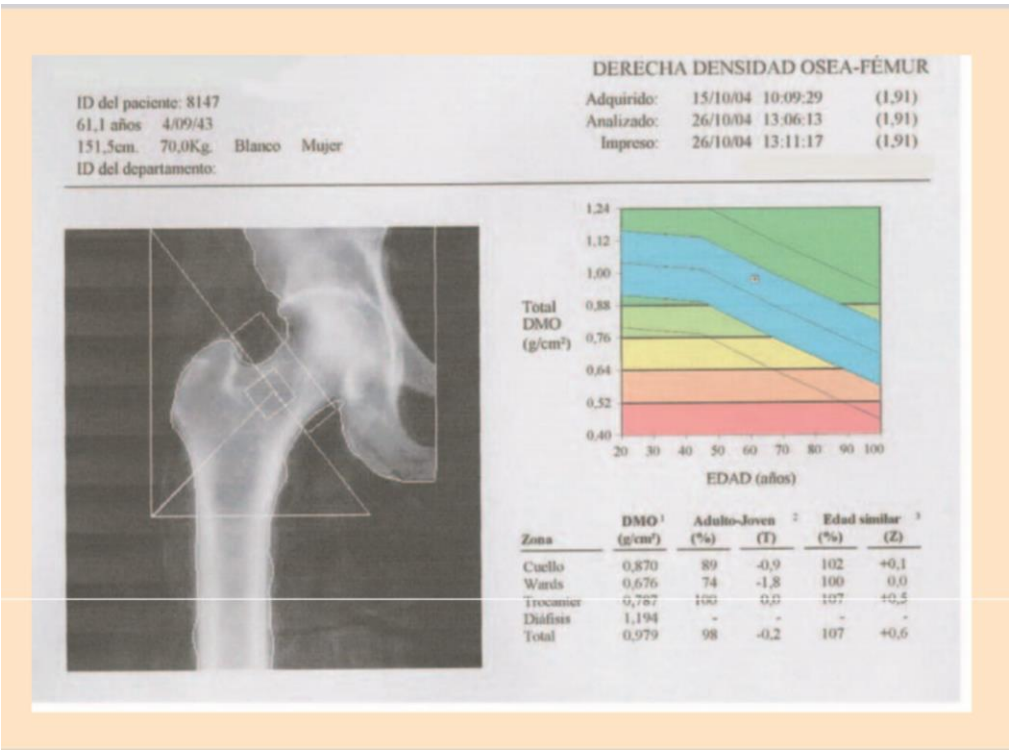


Figura 8. Imagen de una densitometría de fémur

Escala QFracture®

Es un algoritmo para la estimación del riesgo individual de fractura de cadera u osteoporótica a 10 años (Hippisley-Cox J., et al., 2009). Se realizó a partir de una amplia cohorte (1.183.663 mujeres y 1.174.232 varones entre 35 y 85 años) del Reino Unido, se identificó una amplia serie de variables altamente predictivas e independientes asociadas al riesgo de fractura (edad, sexo, raza, peso, talla, consumo de tabaco y alcohol, diabetes, antecedentes familiares de fractura, necesidad de cuidados, antecedentes de fractura en muñeca, vértebras, cadera o en hombro, historia de caída, demencia, cáncer, asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad isquémica cerebral o coronaria, enfermedades hepáticas o renales crónicas, Parkinson, artritis reumatoide o lupus eritematoso sistémico, malabsorción, enfermedades endocrinas, epilepsia o tratamiento anticomitial, tratamiento antidepresivo, glucocorticoides y terapia hormonal sustitutiva o estrógenos), pero no valora la DMO. La herramienta está también disponible de manera general y gratuita online.

El QFracture® utiliza el rango de edad entre los 30 y 85 años, mientras que el FRAX® entre los 40-90 años. Otra diferencia es que la escala QFracture® fue validada con una amplia y representativa cohorte de un solo país (Reino Unido), mientras que FRAX® lo fue a partir de diferentes cohortes de ensayos clínicos o estudios prospectivos en diferentes momentos temporales. La escala QFracture® además recoge factores de riesgo no recogidos en FRAX® o lo hace más detalladamente y recoge los antecedentes de fractura de manera más específica. Sin embargo, se trata de una herramienta solo validada en el Reino Unido, y requiere de una calibración o ajuste en poblaciones del resto de países. Las principales críticas a estos modelos de valoración del riesgo de fractura van dirigidas a su uso como herramienta para establecer criterios de indicación de tratamiento o de evaluación densitométrica. Se han propuesto por parte de los propios autores unos puntos de corte de riesgo absoluto del 20 % para fracturas osteoporóticas mayores y del 3 % para fractura de cadera, lo cual ha sido aceptado por la mayoría de las sociedades científicas (Kanis JA., et al., 2013; Compston J., et al., 2013).

Escala FRAX®

La escala FRAX (fracture risk assessment) fue creada en el año 2008 por el profesor Kanis, al frente de un grupo de investigadores de la Universidad de Sheffield. Su objetivo fue identificar y ponderar los factores de riesgo de fractura más relevantes, para lo cual se basaron en las cohortes poblacionales empleadas para diversos estudios epidemiológicos procedentes de Europa, América del Norte, Asia y Australia. Se incluyeron 59232 pacientes (74% mujeres) de entre 40 y 90 años de edad con un seguimiento total de 249.898 pacientes/año. Durante el seguimiento se recogieron un total de 3.495 fracturas por fragilidad, 974 de ellas eran de la cadera. Con estos datos se calculó la contribución al riesgo de fractura de los diferentes factores de riesgo. Se creó una herramienta que permite calcular en un individuo el riesgo absoluto de fractura osteoporótica en los 10 años siguientes, basándose en una serie de datos clínicos y pudiéndose usar o no el valor de la DMO en cuello femoral (Kanis JA., et al., 2008).

Los factores de riesgo clínico que se identificaron son siete: fractura previa por fragilidad, historia familiar de fractura de cadera, tabaquismo, uso de corticoides sistémicos, consumo excesivo de alcohol, índice de masa corporal y la artritis reumatoide, que, además de la edad y el sexo, contribuyen de forma independiente de la DMO al riesgo de fractura (Kanis JA., et al., 2005).

Tabla 6. Factores de riesgo en el FRAX (Kanis JA., et al., 2008).

Factores de riesgo de fractura incluidos en el FRAX

Edad
Sexo
Índice de masa corporal
Antecedente de fractura por fragilidad en la edad adulta
Antecedente de fractura de la cadera en alguno de los progenitores
Tabaquismo activo
Ingesta de glucocorticoides
Artritis reumatoide
Osteoporosis secundaria
Consumo excesivo de alcohol
Densidad mineral ósea

Los mejores datos epidemiológicos sobre las fracturas proceden de Malmö, Suecia. La mayoría de los países incorporados al FRAX, incluida España, disponen únicamente de datos de fractura de cadera, por lo que el riesgo de fractura osteoporótica global se ha estimado utilizando la relación edad-específica entre incidencia de fractura global y de fractura de cadera de Malmö. Por lo tanto, el modelo matemático calcula el riesgo de fractura global mediante proporciones universales con el riesgo de fractura de cadera, pero utiliza índices de fractura de cadera y mortalidad específicos de cada país.

La información proporcionada por las cohortes se integró en una regresión de Poisson en la que los eventos de fractura y muerte fueron incluidos como funciones continuas; se construyeron 4 modelos matemáticos:

- 1) Riesgo de presentar una fractura osteoporótica global (incluyendo fractura vertebral clínica, fractura de cadera, de antebrazo y de humero proximal) sin inclusión de la DMO en el algoritmo diagnóstico.
- 2) Riesgo de presentar fractura de cadera sin inclusión de la DMO en el algoritmo diagnóstico.
- 3) Riesgo de presentar una fractura osteoporótica global con inclusión de la DMO en el algoritmo diagnóstico.
- 4) Riesgo de presentar fractura de cadera con inclusión de la DMO en el algoritmo diagnóstico.

En los 4 modelos, el FRAX proporciona el riesgo absoluto de fractura en los próximos 10 años.

FRAX® Herramienta de Evaluación de Riesgo de Fractura desarrollada por la Organización Mundial de la Salud (OMS)

INICIO Herramienta de Cálculo Tablas Preguntas Más Frecuentes Referencias Selecciona una lengua

Herramienta de Cálculo

Por favor responda las preguntas siguientes para calcular la probabilidad de fractura a diez años sin DMO o con DMO.

País: España Nombre/ID: Acerca de los factores de riesgo: i

Cuestionario:

1. Edad (entre 40-90 años) o fecha de nacimiento
Edad: Fecha de Nacimiento: A M D

2. Sexo ☐ Hombre ☐ Mujer

3. Peso (kg)

4. Estatura (cm)

5. Fractura Previa ☐ No ☐ Sí

6. Padres con fractura de cadera ☐ No ☐ Sí

7. Fumador Activo ☐ No ☐ Sí

8. Glucocorticoides ☐ No ☐ Sí

9. Artritis Reumatoide ☐ No ☐ Sí

10. Osteoporosis Secundaria ☐ No ☐ Sí

11. Alcohol 3 o más dosis por día ☐ No ☐ Sí

12. DMO de Cuello Femoral (g/cm²)
Seleccione DXA:

Borrar Calcular

Weight Conversion: pound convert

Height Conversion: inch convert

Figura 9. Página de cálculo de riesgo de fractura para la población española mediante el FRAX

Algunos investigadores han criticado a la escala FRAX ya que consideran que no toma en cuenta la DMO en la columna vertebral, de afectación distinta y más frecuente que la de cuello femoral (incluso se señala que la DMO en esta localización es menos predictiva del riesgo de fractura de cadera que la DMO de cadera total); o que no se valora la frecuencia de caídas o la ingesta de calcio, o no se tiene en cuenta el número de fracturas previas, o que presenta sesgos poblacionales que tienen su origen en las propias cohortes empleadas como base de datos, tal y como se observó en estudios realizados en poblaciones de distintos países, entre ellas la Española (Azagra R., et al., 2011; González-Macías J., et al., 2012).

Algunos estudios han demostrado que con menos ítems como la edad, DMO y fractura previa/fractura vertebral previa, la predicción del riesgo es semejante (Donaldson MG., et al., 2009). Este debate sobre su utilidad aún permanece en la actualidad, siendo el juicio clínico del médico fundamental sobre todo para la valoración de factores no incluidos en el algoritmo como la frecuencia de caídas y la DMO de la columna lumbar.

La utilización del FRAX permite identificar a las personas con un elevado riesgo de fractura osteoporótica, tributarias de intervención precoz y que, hasta ahora, pasan desapercibidas. Por otra parte, ayuda a disminuir el número de tratamientos innecesarios por administrarse a pacientes con un riesgo de fractura bajo. Otra utilidad es para decidir a qué pacientes solicitar una DXA.

The trabecular Bone Score o Puntuación de hueso trabecular.

La puntuación de hueso trabecular (TBS) es una herramienta analítica recientemente desarrollada que realiza mediciones de textura en escala de grises en imágenes de DXA de columna lumbar, y captura información relacionada con la microarquitectura trabecular, proporcionando información esquelética que no es captada durante la DXA. Usa variogramas experimentales de imágenes 2D (DXA) proyectadas. La TBS no es una medida directa de la microarquitectura ósea, sino que está relacionada con las características óseas 3D, como el número trabecular, la separación trabecular y

la densidad de conectividad, es decir, puede diferenciar entre dos imágenes 3D que muestran una misma densidad ósea pero diferentes características trabeculares (Winzenrieth R., et al., 2013; Hans D., et al., 2011). Un valor elevado de TBS correlaciona con una mejor microestructura esquelética y un valor bajo de TBS correlaciona con una más débil.

El TBS es una variable dependiente de la edad, se han observado pequeños cambios en paciente de 30-45 años, es decir, que se observa una disminución progresiva a medida que avanza la edad y es más marcada en mujeres (Simonelli C., et al., 2014). El análisis del TBS de la columna lumbar se realiza de la misma región que la medición de la DMO así las vértebras que se excluyen del cálculo de la DMO como vértebras fracturadas o con artrosis también son excluidas en el análisis del TBS. Aunque el resultado de TBS se da para cada vértebra, el valor de TBS informado representa el promedio de L1 a L4. Los rangos normales de TBS en mujeres postmenopáusicas han sido propuestos de la siguiente manera: $TBS \geq 1.350$ se considera normal, TBS entre 1.200 y 1350 se considera una degradación parcial de la microarquitectura y un $TBS \leq 1200$ se considera una microarquitectura degradada. Estos puntos de cortes se establecieron por un grupo de trabajo de diferentes países (Cormier C., et al., 2012).

Hasta la actualidad el mayor estudio publicado sobre TBS se llevó a cabo en la provincia canadiense de Manitoba (Leslie WD., et al., 2007), comprende 29.407 mujeres posmenopáusicas (>50 años, media 65.4 años). A los cinco años de seguimiento, se presentaron 1668 fracturas mayores osteoporóticas incidentes, incluyendo 439 fracturas vertebrales y 293 fracturas de cadera. La DMO de la columna lumbar y el TBS predijeron fracturas de igual manera, y se observó que la combinación de los dos tiene mejor resultado que de forma individual. Curiosamente la DMO de la columna lumbar y de la cadera total estaban estrechamente correlacionados ($r = 0,72$); la DMO y el TBS de la columna lumbar sólo se correlacionaron débilmente ($r = 0,32$). Varios estudios también han destacado que la correlación entre la DMO y el TBS es débil o moderada (Hans D., et al., 2011).

Para que el TBS sea considerado clínicamente útil como un modificador de FRAX, debe ser al menos parcialmente independiente de la DMO de la columna lumbar, del cuello del fémur y de los factores de riesgo clínicos del FRAX. Datos preliminares han demostrado que cuando se usa el TBS de la columna lumbar en combinación con el FRAX se incrementa la predicción del riesgo de fractura. Una evaluación de la relación entre factores de riesgo del FRAX, DMO y TBS se realizó en la cohorte de Manitoba y se observó que un TBS bajo predice un riesgo aumentado de fractura incidente y que el TBS de la columna lumbar es un predictor significativo de fractura osteoporótica mayor después de ajustar para los factores de riesgo clínicos y la DMO del cuello femoral (Leslie W., et al., 2013; Lamy O., et al., 2013).

En la cohorte de Manitoba, 534 mujeres postmenopáusicas tratadas con bisfosfonato (86%), raloxifeno (10%) o calcitonina (4%) y con un cumplimiento de más del 75%, se compararon con 1.150 mujeres sin tratamiento (Krieg MA., et al., 2013). La duración media del seguimiento fue de 3,7 años. Las mujeres del grupo tratado eran mayores (edad media 66,1 frente a 62,2 años), y tenían puntuaciones más bajas para DMO, TBS lumbar, además tenían una mayor prevalencia de fractura osteoporótica mayor previa (15,4 frente a 10,4%) al inicio del tratamiento. En el transcurso del seguimiento, la DMO y el TBS aumentaron en las mujeres tratadas en un 1,9% y 0,2%, respectivamente, mientras que en las mujeres no tratadas, la DMO y el TBS disminuyeron en 0,4% y 0,3% (todos los cambios fueron estadísticamente significativos).

Di Gregorio S. y colaboradores analizaron una cohorte de 390 pacientes para evaluar el efecto de diferentes tratamientos (testosterona, risedronato, alendronato, denosumab, teriparatida) en la DMO y el TBS. Después de 24 meses, observaron un aumento significativo en el TBS sólo en los grupos tratados con alendronato (+ 1,4%), denosumab (+ 2,8%) y teriparatida (+ 3,6%), mientras que la DMO aumentó en todos los grupos tratados. Los tratamientos para la osteoporosis que aumentan la DMO, también aumentan el TBS, sin embargo, este incremento es menos marcado. Por lo cual no está claro si el TBS es útil para monitorizar los efectos del tratamiento, ya que la DMO es más sensible al cambio (Di Gregorio S., et al., 2015).

La evaluación de la microarquitectura sumada a la DMO es de interés en algunas condiciones asociadas a un elevado riesgo de fractura. Por ejemplo, en pacientes con terapia crónica de glucocorticoides, el riesgo elevado de fractura es independiente a la DMO medida por DXA (Kanis JA., et al., 2004) lo mismo ocurre en pacientes con diabetes tipo 2 (De Liefde II, et al., 2005). Varios estudios han descrito al TBS como herramienta útil para predecir fractura por fragilidad en pacientes con OP secundaria por: diabetes, artritis reumatoide, hiperparatiroidismo primario, incidentaloma adrenal y enfermedad crónica renal (Breban S., et al., 2012; Romagnoli E., et al., 2013; Eller-Vainicher C., et al., 2012).

Aunque los resultados de los estudios clínicos han confirmado la capacidad del TBS de identificar el riesgo de fractura en un número sustancial de mujeres postmenopáusicas, los datos todavía son preliminares en los varones. El rango de referencia para los valores de TBS que se ha propuesto se aplica sólo a las mujeres posmenopáusicas y se necesitarían más estudios con mayor población. Además, no se ha validado el uso de TBS en sujetos con IMC inferior a 15kg / m² y superiores a 35kg/ m², éstas son algunas de las limitaciones clínicas del TBS (Silva BC., et al., 2014).

1.4 AUTOFAGIA

La autofagia comprende varios mecanismos por los cuales componentes del citoplasma celular son degradadas en los lisosomas. Es responsable de reciclar sustancias celulares como proteínas alteradas o no necesarias y de la generación de aminoácidos durante los periodos de estrés celular, contribuyendo a la homeostasia energética celular en condiciones de estrés oxidativo, falta de nutrientes, hipoxia y el envejecimiento. También es importante en el desarrollo y diferenciación de los tejidos (Mizushima y Komatsu 2011).

Existen tres tipos de autofagia: la macroautofagia, microautofagia y la mediada por chaperonas. La vía más importante es la macroautofagia, ya que representa la principal vía por la cual los componentes citoplasmáticos son reciclados, en la cual partes del citoplasma son secuestradas dentro de vesículas con doble o múltiples membranas formando los autofagosomas que posteriormente se fusionan con los lisosomas para formar los autofagolisosomas cuyo contenido es degradado y reciclado (Levine y Kroemer 2008; Mizushima 2007 y 2011). En la microautofagia la propia membrana del lisosoma se invagina y engloba el material a ser degradado (Li, et al., 2012). La autofagia mediada por chaperonas implica el transporte de proteínas citosólicas específicas identificadas y marcadas por una serie de chaperonas (Hsc70 y otras co-chaperonas) hasta unos complejos de translocación donde finalmente serán degradadas (Kaushik y Cuervo 2012). En los

años 90 fue cuando se conoció el proceso de autofagia con el descubrimiento en levaduras de los genes ATG (autophagy related genes) (Nakatogawa H., et al., 2009).

En la autofagia pueden distinguirse tres estadios: inducción, elongación y finalización. La célula regula la inducción de la autofagia a través de la proteína mTOR (mammalian target of rapamycin). Cuando mTOR está activa actúa regulando de forma negativa la autofagia, bloqueando la ruta mediante la fosforilación de Atg13. Sin embargo, cuando mTOR está inactiva, el complejo ULK1 (formado por Atg13-ULK1-Atg10-FIP200) se transloca a posiciones cercanas al retículo endoplasmático (PAS, phagophore assembly sites) favoreciendo la formación de los autofagosomas. El complejo ULK1 estimula la formación de un segundo complejo con actividad fosfatidilinositol 3-quinasa formado por las proteínas Beclina-1, Vps15, Vps34, Ambra-1 o Atg14. La síntesis de PI (3P) por parte del complejo ULK1, permite el reclutamiento de más proteínas (WIPs) que son necesarias para la elongación de la vesícula en formación. La actividad de este complejo PI-3K puede bloquearse a nivel de Beclina-1 gracias a la acción de la proteína Bcl-2. Posteriormente, se produce el alargamiento de las vesículas que engloban proteínas y orgánulos completos. Para que se produzca la elongación es necesario que se formen tanto el complejo Atg12-Atg5-Atg16L1 como el conjugado LC3-fosfatidiletanolamina (LC3-PE o LC3-II), insertándose ambos en la membrana de la vesícula en expansión. En la formación del complejo Atg12-Atg5-Atg16L1 es fundamental la participación de Atg10, una ligasa de tipo E2 (Rubinsztein, et al., 2012).

Además, el complejo Atg12-Atg5-Atg16L1 favorece la conjugación de LC3-I con PE. Posteriormente, el complejo Atg12-Atg5-Atg16L1 se disocia tras sellarse el autofagosoma; sin embargo, LC3-II permanece en su membrana y sirve como un marcador de la presencia de vesículas autofágicas. Por último, se produce la fusión de los autofagosomas con los lisosomas gracias a la intervención de varias proteínas transmembrana de los lisosomas como LAMP y CLN-2. Tras lo cual se produce la degradación del material citoplasmático inicialmente englobado (Eskelinen, et al., 2009).

et al., 2008). De igual manera una autofagia defectuosa podría favorecer el acumulo de lipofuscina (pigmento de desgaste compuesto por lípidos y fosfolípidos) y vacuolas lipídicas que a su vez pueden inhibir la autofagia (Singh, et al., 2009).

1.4.2 AUTOFAGIA EN CÉLULAS ÓSEAS.

La disminución en la fuerza y masa ósea durante el envejecimiento tiene múltiples causas. Los osteocitos son células multifuncionales de larga vida dentro de la matriz ósea y una de sus funciones más importante es el remodelado óseo. Debido a su longevidad, los osteocitos pueden producir daño molecular acumulado sobre el tiempo. Así se piensa que el desbalance del remodelado óseo es el culpable de la fragilidad esquelética (Jilka RL. y O'Brien CA. 2016).

El esqueleto se va deteriorando con el paso del tiempo, por lo que hay un aumento en la incidencia de fracturas no traumáticas particularmente después de los 60 años de edad. La pérdida de masa ósea se inicia a temprana edad, desde la tercera década de la vida en ambos sexos (Khosla S. 2013). La pérdida de masa ósea inicial ocurre principalmente a nivel del hueso trabecular y es acelerada en la menopausia; los osteoblastos no son capaces de remplazar el hueso removido por los osteoclastos y la pérdida de hueso cortical ocurre después de los 60 años de edad, caracterizada por un aumento del tamaño de los canales Haversianos, provocando que el hueso se vuelva más delgado y más poroso; un pequeño aumento de la porosidad tiene un impacto significativo en la fragilidad del esqueleto ya que el hueso se vuelve más rígido (Nicks KM., et al., 2012). Además, en el hueso envejecido hay una reducción del número de lagunas osteocíticas (Busse B., et al., 2010), como se ha observado en el hueso cortical del fémur, en el hueso trabecular de la cresta iliaca y en el hueso parietal (Torres-Lagares D., et al., 2010; Moris S., et al., 1997); de igual manera existe una alteración en la red de las conexiones entre las prolongaciones de los osteocitos a través de los canalículos (Milovanovic P., et al., 2013).

Existen estudios que sugieren que una autofagia alterada puede provocar disfunción de las células óseas. La autofagia juega un papel central en mantener la salud, viabilidad y función de las células de larga vida como son los osteocitos, la acumulación en el tiempo de organelas y proteínas dañadas puede provocar una declinación en la autofagia. Nuschke et al, observaron, en las células madre mesenquimales indiferenciadas, una acumulación de vacuolas autofágicas no degradadas, que normalmente son utilizadas como energía para el proceso de diferenciación hacia los osteoblastos. Nollet et al., demostraron que el proceso de autofagia aumenta durante la diferenciación de los osteoblastos (OB) y durante la mineralización de la matriz ósea, observaron vacuolas autofágicas dentro de los OB que contenían minerales de apatita liberados en el medio extracelular, sugiriendo que la mineralización intracelular podría estar mediada por la autofagia. Liu et al, describieron la importancia de la autofagia en la función de los OB, inhibiendo la misma y analizando las consecuencias sobre los OB; así utilizaron en el día 10 de la diferenciación cloroquina y 3-MA (3 metiladenina) sobre las células estromales de la medula ósea, provocando una disminución en el número y tamaño de las células fosfatasa alcalina positivas y, como consecuencia, observaron un descenso significativo de la mineralización de la matriz ósea. Los osteocitos (OST) representan la fase terminal de la diferenciación de los OB y están sometidos constantemente a condiciones de

estrés como la falta de nutrientes e hipoxia, las cuales son estímulos para el proceso de autofagia importante para la supervivencia de los mismos (Zahm, et al., 2011).

La autofagia y/o las proteínas autofagicas (Atg5, Atg7, Atg4B y LC3) parecen estar implicadas en la diferenciación y función de los osteoclastos (DeSelm, et al., 2011). Por ejemplo, la supresión de Atg7 en los osteocitos de ratones transgénicos, provoca una masa ósea baja a los 6 meses de edad en ambos sexos, debido a que el volumen del hueso trabecular se reduce, asociándose a menor número de osteoclastos y OB; además el grosor del hueso cortical disminuye y su porosidad aumenta, demostrando la importancia de la autofagia en los osteocitos y osteoblastos para controlar la homeostasis ósea (Onal M., et al., 2013).

Existe evidencia que indica que los cambios relacionados con la edad como el estrés oxidativo, aumentan la actividad autofágica de los osteocitos (Yang et al., 2014); de igual manera, se observó una disminución en la expresión de LC3-II, BECN1 y ULK-1, mientras que la expresión de p62 y la apoptosis estaban aumentados en los osteocitos (Chen, et al., 2014).

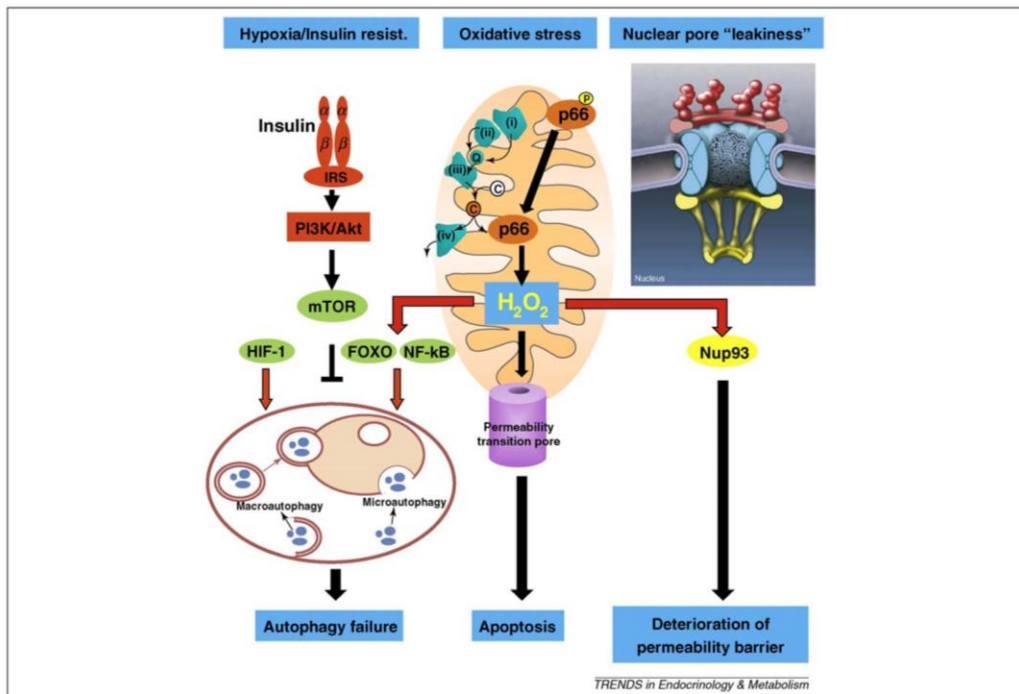


Figure 2. Putative mechanisms of decreased osteocyte number by the age-associated increase in oxidative stress (OS). The production of H₂O₂ and several other reactive oxygen species, generated during aerobic metabolism within the mitochondria, increases with advancing age. This increase is amplified by the phosphorylation of p66, which oxidizes reduced cytochrome c (C) released from the electron transfer chain and opens the permeability transition pore leading to apoptosis. Cells attempt to counteract the adverse consequences of OS by several mechanisms, including an increase in different types of autophagy, stimulated by the activation of transcription factors such as FoxOs and NF-κB. Failure of autophagy with age further contributes to the cell demise. Additionally, with advancing age, long-lived postmitotic cells fail to maintain the nuclear pore diffusion barrier as a result of leakiness caused by the oxidation of nucleoporins, such as Nup-93.

Figura 11. Mecanismos que alteran la función de los osteocitos. Tomado de (Manolagas SC, Parfitt AM, 2010).

2 HIPOTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica que se caracteriza por tener una baja masa ósea y un deterioro de la microarquitectura provocando una predisposición a las fracturas ante mínimos o ningún traumatismo. La aparición de una fractura osteoporótica supone un incremento notable del riesgo de sufrir otra nueva fractura. El síndrome del paciente frágil es un concepto que se viene introduciendo en los últimos años, para indicar una situación clínica asociada a un aumento del riesgo de debilidad muscular, caídas frecuentes, hospitalización, discapacidad y mortalidad. Ha habido varios intentos de consensuar la definición de paciente frágil, y se han propuesto diversos criterios para definir el fenotipo del paciente frágil.

La biología de la fragilidad y el envejecimiento se han asociado a diversos factores biológicos como la apoptosis, autofagia, la senescencia celular, alteraciones de la reparación celular y la respuesta sistémica a los estresores entre otros. La disfunción de la autofagia y de la formación de autofagosomas interfiere con los procesos de reparación celular que han sido involucrados en el envejecimiento y la fragilidad.

Los datos de los últimos años sugieren que existe una relación entre los conceptos de paciente frágil y el de osteoporosis en los pacientes ancianos. La fragilidad es una condición clínica progresiva que se acelera con la edad con una estimable prevalencia por encima de los 65 años; y está determinada por numerosos factores genéticos, epigenéticos y ambientales, junto con otros elementos multifactoriales como sarcopenia, inflamación, malnutrición, comorbilidades, insuficiencia hormonal, etc. La relación entre fragilidad y osteoporosis es el incremento del riesgo de sufrir una fractura, es decir, la fragilidad podría ser un predictor de fractura osteoporótica. La cuantificación del grado de fragilidad podría ayudar a valorar el riesgo de fractura y a tomar decisiones para su prevención. Se ha documentado en diversos estudios la relación entre fragilidad y fractura osteoporótica de cadera. Sin embargo, siendo la cadera una fractura grave, no es la más frecuente. La fractura vertebral es mucho más prevalente y también supone un impacto importante en la salud y la mortalidad de quienes lo padecen.

Partiendo de estos datos nuestra hipótesis de trabajo es que la fractura vertebral también está asociada al grado de fragilidad y a determinados polimorfismos de genes implicados en la autofagia. El grado de fragilidad será mayor en aquellos con mayor acúmulo de fracturas de todo tipo, y otros factores que incrementen el riesgo de fractura.

OBJETIVOS

Objetivos primarios

1. Conocer el grado de fragilidad medida por los criterios de Fried en los pacientes con fractura vertebral.
2. Conocer la relación entre el grado de fragilidad y la presencia de polimorfismos de genes implicados en la autofagia ATG2B, ATG10, ATG16L1 y ATG5 en pacientes con fractura vertebral.

Objetivos secundarios

1. Valorar la relación entre el grado de fragilidad y parámetros relacionados con la masa y la estructura óseas en pacientes con fractura vertebral.
2. Analizar la relación entre el grado de fragilidad y la acumulación de fracturas en pacientes con fracturas vertebrales.
3. Evaluar la relación entre el grado de fragilidad y marcadores de "turnover" óseo en pacientes con fractura vertebral.
4. Valorar la relación entre el grado de fragilidad y el riesgo de fractura en pacientes con fractura vertebral.
5. Conocer la relación entre los polimorfismos de los genes de autofagia ATG2B, ATG10, ATG16L1 y ATG5 y parámetros óseos, riesgo de fractura, acumulación de fracturas y marcadores de "turnover" óseo

3 PACIENTES Y MÉTODOS

3.1 PACIENTES Y CONTROLES:

En nuestro estudio hemos incluido un total de 124 mujeres con fracturas vertebrales que han sido valorados y diagnosticadas en el Servicio de Reumatología del Hospital Universitario de Salamanca entre Enero de 2011 y Marzo de 2015.

Como grupo control se incluyeron 124 mujeres sanas mayores de 60 años, sin fracturas vertebrales ni de otra localización, sin antecedentes familiares y sin ninguna patología reumatológica.

Tanto los pacientes como controles incluidos en el presente estudio firmaron un consentimiento informado siguiendo la regulación legal que dicta el Comité de ética de Hospital Clínico Universitario de Salamanca.

3.1.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los pacientes presentaban fracturas vertebrales no traumáticas a nivel dorsal y/o lumbar objetivadas por radiografía convencional en vista lateral y/o postero-anterior. Las fracturas se clasificaron en sintomáticas si el paciente había presentado dolor de columna vertebral en el momento del diagnóstico.

3.1.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes con fracturas vertebrales secundarias a traumatismos.

3.2 MÉTODO:

3.2.1 RECOGIDA DE DATOS:

Variables:

Se recogieron los siguientes datos:

- *Epidemiológicos*: nombre del paciente, número de historia clínica, fecha de nacimiento (a raíz de ésta se calculó la edad), sexo.

- *Clínicos*: tipo de fractura (sintomática o asintomática), edad de la menopausia, antecedentes familiares de fractura (padres con fractura de cadera), consumo de corticoides (en caso de que el paciente estaba tomando corticoides en el momento de la recogida de datos o los ha tomado durante más de tres meses a una dosis equivalente a 5mg de prednisona), fracturas no vertebrales, tratamiento, patologías asociadas que tomamos en cuenta por precisar toma de corticoides de forma crónica para su control, como la Artritis Reumatoide, Espondiloartritis, Polimialgia reumática, y Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
- *Hábitos tóxicos*:
 - Tabaco. Los pacientes se clasificaron en fumador, exfumador, no fumador. Se considera que un paciente es exfumador cuando ha dejado el hábito tabáquico después de un año. (<http://alergiayasma.es/nueva-guia-para-dejar-de-fumar-de-la-sociedad-espanola-de-neumologia-separ>)
 - Alcohol. Se clasificaron los pacientes en bebedor, exbebedor y no bebedor. Se consideró bebedor si hay un consumo ≥ 2 unidades de alcohol al día en mujeres y ≥ 3 unidades de alcohol al día en hombres. Cada unidad de alcohol es equivalente a una media de 8g (Shield KD, et al. 2017).
- *Dietéticos*: Se ha tenido en cuenta el consumo de lácteos en unidades. Una unidad corresponde a 200 – 250ml de leche o equivalente (2 yogures, 2-3 lonchas de queso, o 125mg de queso fresco (Aranceta et al, 2016).
- *Índice de masa corporal (IMC)*: Respecto al IMC se clasificó a los individuos como de bajo peso IMC < 18,5, peso normal (IMC 18,5 – 24,99), con sobrepeso (IMC ≥ 25). El IMC se calcula a partir de la fórmula peso (kg)/talla (m²).
- *Criterios de fragilidad según Fried*:

Se utilizaron los 5 criterios descritos por Fried (Fried L. et al 2001), para evaluar y clasificar a los pacientes en tres grupos: no frágil o robusto si no presentaba ningún criterio (puntuación 0), prefrágil si presentaba uno o dos criterios (puntuación 1-2) y frágil si existían tres o más de los criterios (puntuación 3-5). Los criterios son:

- Pérdida de peso involuntaria en el último año > a 5 kg o mayor del 5% del peso previo en el último año.
- Baja energía y resistencia: frecuencia autorreferida con la que se responde afirmativamente a cualquiera de las dos preguntas de la escala de depresión CES-D (Center Epidemiological Studies Depression: a) ¿Sentía que todo lo que hacía suponía un esfuerzo en la última semana?, b) ¿Sentía que no podía ponerse en marcha la última semana? Se considera criterio de fragilidad si a una de ella se respondía: moderada cantidad de tiempo, es decir, 3-4 días a la semana o la mayor parte del tiempo.

- Fuerza prensora: Se utilizó un dinamómetro (Saehan, modelo SH5001), se midió en kilogramos y se estratificó por género e IMC. Se considera criterio de fragilidad los que se encuentran en el quintil inferior:
 - Hombres:

IMC	≤ 24	≤ 29
IMC	24,1-26	≤ 30
IMC	26,1-28	≤ 30
IMC	≥ 28	≤ 32
 - Mujeres:

IMC	≤ 23	≤ 17
IMC	23,1-26	≤ 17,3
IMC	26,1-29	≤ 18
IMC	≥ 29	≤ 21
- Velocidad de la marcha: se valora el tiempo que tarda en caminar 4,5 metros con o sin ayuda según corresponda. Estratificado por altura y género. Se considera criterio de fragilidad los que están en el quintil inferior:
 - Hombres: altura ≤ 173cm ≥ 7 segundos/ altura >173cm ≥ 6 segundos
 - Mujeres: altura ≤ 159cm ≥ 7 segundos/ altura >159cm ≥ 6 segundos
- Bajo nivel de actividad física: para su valoración utilizamos preguntas del cuestionario SF-12 que evalúa la actividad física. Si la paciente respondía a ≥ 3 ítems de manera afirmativa se consideraba el criterio como positivo.
 1. ¿Su salud actual le limita para hacer las siguientes actividades o cosas? Si es así ¿Cuánto?:
 - Esfuerzos moderados, como mover una mesa, pasar la aspiradora, caminar más de 1 hora.
 - Subir varios pisos por la escalera
 - El grado de limitación se dividió en: mucho, poco o sin limitación.
 2. Durante las 4 últimas semanas, ¿ha tenido alguno de los siguientes problemas en su trabajo o en sus actividades cotidianas, a causa de su salud física?
 - ¿Hizo menos de lo que hubiera querido hacer?
 - ¿Tuvo que dejar de hacer algunas tareas en su trabajo o en sus actividades cotidianas?
- *Analíticas.* Se recogieron valores de paratohormona (PTH), niveles de vitamina D, marcadores de remodelado óseo: crosslaps y procolágeno tipo I.

- *Radiográficos.* Radiografía de columna lumbar, dorsal en las proyecciones postero-anterior y lateral.
- *Densitométricos.* Se realizó densitometría (DXA) de todos los pacientes incluidos en el estudio. Se evaluó la densidad mineral ósea (DMO) y se recogieron T-score de columna y cadera, Z-score de columna y de cadera, DMO en columna y cadera (en g/cm²). La definición clínica de osteoporosis postmenopáusica está basada en mediciones de la DMO expresada en unidades de desviación estándar (DE) llamadas T score. El T score se calcula considerando la diferencia entre la medida de la DMO en el paciente y la media de DMO en adultos jóvenes sanos del mismo género y grupo étnico en relación con la DE de esta medida en adultos jóvenes (T score = DMO medida - media DMO en adultos jóvenes/DE adultos jóvenes). Un resultado T score indica la diferencia entre la DMO del paciente y el pico ideal de masa ósea conseguido por adultos jóvenes. Aplicando estos criterios (T score) se establecen las categorías diagnósticas clásicas: osteoporosis, osteopenia y normalidad. El Z score es la comparación del valor del paciente obtenido en la DXA con la referencia a su edad, sexo y lugar de medición, estableciendo el número de desviaciones estándares que se aleja de la media correspondiente, tanto en sentido positivo (masa ósea por encima de la media) o negativo (masa ósea por debajo de la media). Cuanto menor es la Z-score, mayor es el riesgo de fractura (Blake GM, 2007).
- *Trabecular bone score (TBS).* La puntuación de hueso trabecular (TBS) es una herramienta analítica recientemente desarrollada que realiza mediciones de textura en escala de grises en imágenes de absorciometría de rayos X dual (DXA) de columna lumbar, y captura información relacionada con la microarquitectura trabecular, proporcionando información esquelética que no es captada durante la DXA. La TBS no es una medida directa de la microarquitectura ósea, sino que está relacionada con las características óseas 3D, como el número trabecular, la separación trabecular y la densidad de conectividad, es decir, puede diferenciar entre dos imágenes 3D que muestran una misma densidad ósea pero diferentes características trabeculares. (Winzenrieth R, et al 2013, Hans D, et al 2011). Un valor elevado de TBS correlaciona con una mejor microestructura esquelética y un valor bajo de TBS correlaciona con una más débil. El valor de TBS informado representa el promedio de L1 a L4. Los rangos normales de TBS en mujeres postmenopáusicas han ido propuestos de la siguiente manera: TBS ≥ 1.350 se considera normal, TBS entre 1.200 y 1350 se considera una degradación parcial de la microarquitectura y un TBS ≤ 1200 se considera una microarquitectura degradada. Estos puntos de cortes se establecieron por un grupo de trabajo de diferentes países (Cormier C, et al 2012).

- *Fracture Risk Assessment (FRAX)*. Es una herramienta que permite calcular en un individuo el riesgo absoluto de fractura osteoporótica en los 10 años siguientes, basándose en una serie de datos clínicos y pudiéndose usar o no el valor de la DMO en cuello femoral (Kanis JA, et al 2008). Los factores de riesgo clínico que se identificaron son siete: fractura previa por fragilidad, historia familiar de fractura de cadera, tabaquismo, uso de corticosteroides sistémicos, consumo excesivo de alcohol, índice de masa corporal y la artritis reumatoide, que, además de la edad y el sexo, contribuyen a la fractura de riesgo de forma independiente de la DMO (Kanis JA, et al 2005).
- *FRAX corregido por TBS*. Datos preliminares han demostrado que el TBS mejora la predicción del riesgo de fractura del FRAX. Así cuando se usa el TBS de la columna lumbar en combinación con el FRAX se incrementa la predicción del riesgo de fractura. (Leslie W, et al 2013).

3.2.2 OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA Y AISLAMIENTO DEL DNA DE ALTO PESO MOLECULAR.

3.2.2.1 OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA.

Las muestras de sangre periférica se obtuvieron por venopunción en tubos de 10 ml con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y se conservaron a 4°C hasta su procesamiento.

3.2.2.2 AISLAMIENTO DEL DNA DE ALTO PESO MOLECULAR.

Las células se aislaron mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica (centrifugación de la sangre total en 50ml de agua bidestilada (ddH₂O) por 30 minutos a 1500 rpm a 4°C. Tras la recuperación de la interfase, las células mononucleadas se lavaron en tampón Fornace (0.25M sacarosa; 50mM Tris-HCL pH 7.5; 25mM KCL; 5mM MgCl₂; el tampón Fornace aporta la osmolaridad necesaria para no romper los leucocitos) y se precipitaron mediante centrifugación a 50rpm por 20 minutos. El botón de células nucleadas de la sangre se resuspendió de nuevo en tampón Fornace a una concentración estimada de 5x10⁶ células/ml.

Al paso anterior se le añadió EDTA (concentración final 10mM), dodecil sulfato sódico (concentración final al 1%) y proteinasa K (Boehringer Mannheim, concentración final 50µg/ml). Se incubó esta mezcla a una temperatura de 55°C por un período de 8-16 horas.

Posterior a la incubación descrita en el paso anterior, se purificó el DNA mediante extracción con fenol-cloroformo/alcohol isoamílico (CIAA) (24:1 v/v), y se centrifugó durante 10

minutos a una velocidad de 1800 rpm. Se recuperó la fase acuosa sobrenadante (contiene el DNA en solución) evitando la interfase proteica, y se añadió el mismo volumen obtenido de fenol-CIAA. Después se centrifugó a 1800 rpm por 10 minutos. Una vez recuperada de nuevo la fase acuosa, el DNA en solución se precipitó mediante la adición de 2,5 volúmenes de etanol absoluto al 100% frío (-20°C). El DNA extraído se lavó con etanol al 70% y después de una breve centrifugación a 16600 rpm se dejó evaporar el etanol residual y se disolvió el DNA en tampón TE (Tris-HCL 10mM pH 7,5; EDTA 1mM) o en agua destilada.

3.2.2.3 CUANTIFICACIÓN DEL DNA:

La concentración y el grado de contenido proteico de DNA se calcularon tras medir su absorbancia a 260 y 280 nm, respectivamente, en un espectrofotómetro automático de DNA/RNA (ND-1000 Spectrophotometer Nanodrop Technologies, Inc. Wilmintong, USA), siguiendo la fórmula:

$$\mu\text{g de DNA/ml} = (\text{DO}_{260}) \times (\text{factor de dilución}) \times 50$$

DO: densidad óptica. 50 es un factor de corrección introducido, debido a que la unidad de densidad óptica con una luz incidente de 260nm es un valor de absorbancia que tiene 50 µg de DNA/ml.

El cociente $\text{DO}_{260} / \text{DO}_{280}$ se utiliza para el grado de contaminación proteica, se considera como valores adecuados un cociente entre 1.65 y 2. Valores inferiores a los señalados indican contaminación por proteínas o solventes orgánicos; en estos casos, se procedió a realizar una nueva purificación del DNA. Valores superiores indican un exceso de ARN, que se elimina tratando la solución de DNA con ARNasa purificando de nuevo, según el método descrito anteriormente.

La muestra de DNA con una concentración aproximada entre 1.000 y 1.500 µg/ml, se almacenó en tubos Eppendorf® a -20°C, con el fin de evitar tanto la degradación progresiva del DNA como su posible contaminación por microorganismos.

3.2.3 DISCRIMINACIÓN ALÉLICA DE SNPs (POLIMORFISMOS DE NUCLEÓTIDO ÚNICO) MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) CON SONDAS TAQMAN®

En la PCR con sondas TaqMan®, o sondas de hidrólisis, los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de DNA sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de DNA formado. Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación. Los termocicladores utilizados para realizar la PCR con sondas TaqMan® tiene un lector de fluorescencia y están diseñados para medir en cualquier momento la fluorescencia emitida por cada uno de los viales donde se realice la amplificación.

Se emplearon sondas específicas marcadas con fluorocromos para la discriminación alélica. Estas sondas de hibridación específica son oligonucleótidos marcados con un fluorocromo donador en el extremo 5' que emite fluorescencia al ser excitado y un aceptor en el extremo 3' que absorbe la fluorescencia liberada por el donador. Para que esto ocurra, las moléculas donadora y aceptora deben estar próximas. Además, el espectro de emisión de la primera se ha de solapar con el espectro de absorción de la segunda. En la tabla 4 se describen los fluorocromos más empleados y sus espectros de excitación y emisión. En todos nuestros ensayos de discriminación alélica mediante PCR con sondas TaqMan® los fluorocromos empleados fueron VIC y FAM. El fluorocromo VIC tiene un espectro de excitación de 528 nm y un espectro de emisión de 546nm, mientras que el fluorocromo FAM presenta un espectro de excitación de 492nm y de emisión de 515.

Mientras la sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el donador es absorbida por el aceptor. Sin embargo, durante la amplificación de DNA diana, la sonda se hibrida con su cadena complementaria. Al desplazarse a lo largo de la cadena, en su acción de síntesis, la Taq Polimerasa, que tiene actividad 5'exonucleasa, hidroliza el extremo libre 5'de la sonda, produciéndose la liberación del fluorocromo donador. Como donador y aceptor están, ahora espacialmente alejados, la fluorescencia emitida por el primero es captada por el lector. (Figura 12)

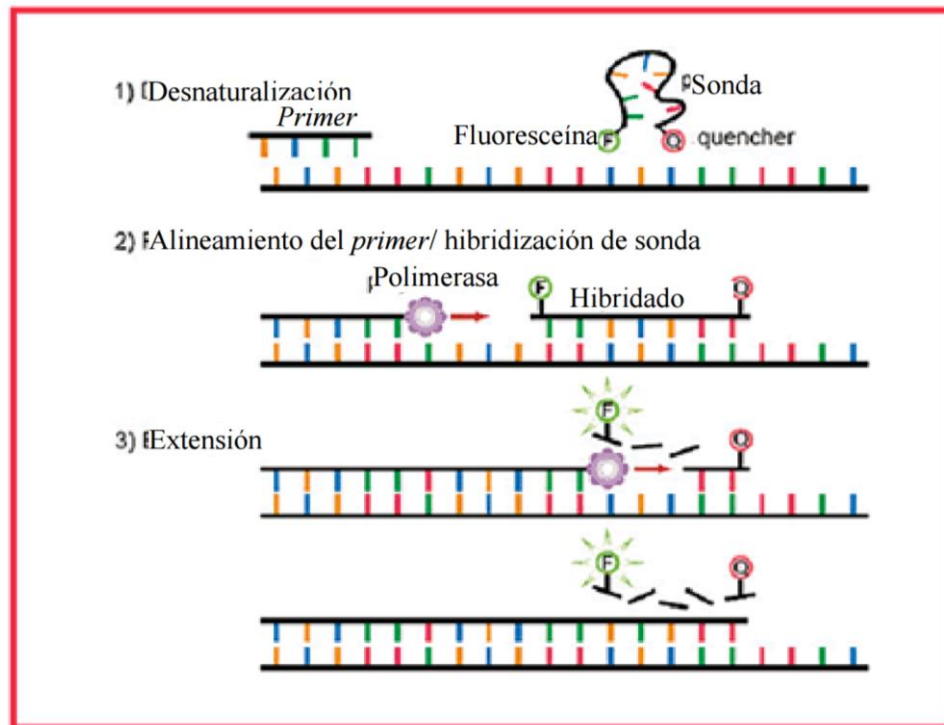


Figura 12. Representación esquemática de un ensayo de RT-PCR usando el método TaqMan® (Tomado de Rodríguez M, Rodríguez W. PCR en tiempo real. Métodos físicos-químicos en Biotecnología 2006)

El incremento de DNA en cada ciclo se corresponde con un aumento de hibridación de las sondas, lo que conlleva un aumento en la misma proporción de fluorescencia emitida. El empleo de estas sondas garantiza la especificidad de la detección e identifica polimorfismos o mutaciones puntuales.

La reacción de amplificación se realizó en el termociclador automático Biosystem Step One®, siguiendo el mismo esquema para los distintos SNPs:

a) Realización del sustrato:

Se realiza una placa de 96 celdas, en la que ponemos como sustrato en cada una de ellas:

- 5 µl del compuesto comercial PCR Taqman®, que proporciona la enzima necesaria para la amplificación (polimerasa Taq).
- 0,25 µl del compuesto comercial que contiene oligonucleótido cebador primer “forward”, oligonucleótido cebador primer “reverse” y las sondas marcadas con fluorocromo de VIC y FAM.
- 4,25 µl de agua destilada.
- 1 µl = 10 ng de ADN (concentración = 10-20 µg/ml). Como control se rellenan ocho celdillas de cada placa con el mismo sustrato, pero sin ADN.

b) Fases del programa:

- Se colocó la placa realizada en el BoiSystem Step One® en el que nuestras muestras pasan por las siguientes fases

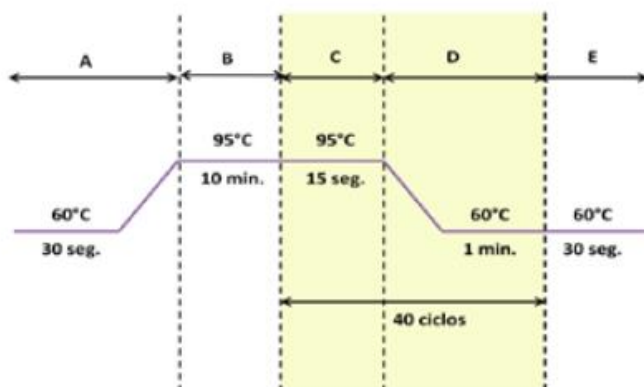


Figura 13. Fases del programa utilizadas en el termociclador. Tomado de www.appliedbiosystems.com

c) Análisis:

El análisis de la detección de fluoresceína representado en la gráfica muestra los resultados de la discriminación alélica realizada y su distribución en nuestros tres grupos de estudio, los dos tipos de homocigotos en los extremos y los heterocigotos en el centro. Así al cuantificar la fluorescencia obtenida observamos que la nube de puntos azul representa sólo fluorescencia de la sonda marcada con VIC® lo que indica homocigosidad del alelo 1 (TT), mientras que la nube de puntos rojos indica sólo fluorescencia de la sonda marcada con FAM lo que indica homocigosidad del alelo 2 (CC) y por último la nube de puntos verde representa a la fluorescencia de ambas sondas marcadas respectivamente con VIC y FAM indicando la heterocigosidad de los alelos 1 y 2 (TC). (Figura 14)

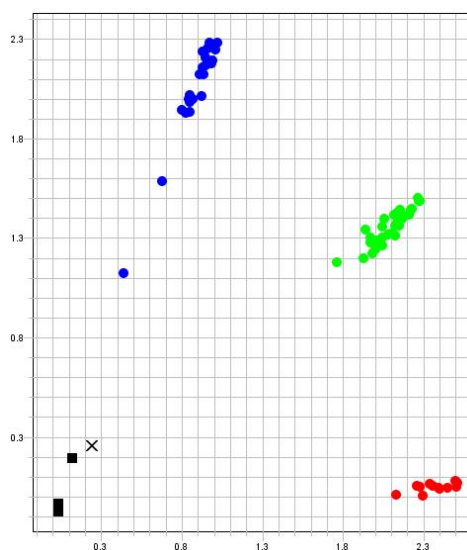


Figura 14. Representación de los resultados de la discriminación alélica con sondas TaqMan del polimorfismo rs2241880 del gen ATG16L1. Cada nube de puntos representa uno de los genotipos posibles: los azules son homocigotos TT, los verdes son heterocigotos TC y l

3.2.4 SNPs ESTUDIADOS.

Tabla 7. Polimorfismos de autofagia analizados en el estudio.

GEN	ID SNP	Cambio de base	SNP	Localización cromosoma	ID Ensayo	HWE
ATG2B	rs3759601	C>G	Q1383E	14	c_9690166_10	>0.05
ATG16L1	rs2242880	T>C	T300A	2	c_9095577_20	>0.05
ATG10	rs1864183	C>T	T212M	5	c_11953871_20	>0.05
ATG5	rs2245214	C>G	Intrónico	6	c_3001905_20	>0.05

Todos los ensayos fueron comerciales. HWE: Hardy-Weinberg Equilibrium in control group.

3.2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico se realizó con el programa informático SPSS (versión 21.0). Se consideró la existencia de significación estadística cuando se halló un p-valor menor de 0,05.

Para el análisis descriptivo de los datos, se calculó la distribución de frecuencias de los porcentajes de cada categoría para cada variable cualitativa y las variables cuantitativas se describen en términos de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar).

En el estudio de variables cualitativas se analizó la distribución mediante el test χ^2 de Pearson o el test de Fisher. En aquellos casos en los que encontramos diferencias estadísticamente significativas, se realizó una regresión logística multivariante para conocer el riesgo que puede generar la presencia de una determinada variable. En el estudio de las variables cuantitativas se aplicó un ANOVA en el caso de que los datos cumplieren igualdad de varianzas (homocedasticidad) y siguiesen una distribución normal. En el caso de que las variables no cumplieren la igualdad de varianzas ni siguiesen una distribución normal se aplicó el test de Mann Whitney (2 muestras independientes) o el test de Kruskal-Wallis (K muestras independientes). La homocedasticidad y la distribución de las muestras se comprobaron con la aplicación del test de Levene y con la aplicación del test de Kolmogorov - Smirnov respectivamente.

4 RESULTADOS

4.1 DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y CLÍNICOS.

En nuestro estudio se incluyeron 124 mujeres con fracturas vertebrales. La edad media de la cohorte fue de 77,17 años ($DE \pm 8,6$).

El 88,7% de los pacientes no tenía antecedentes familiares de fractura. Según el índice de masa corporal (IMC) había predominio de pacientes con sobrepeso ($n=86$ (69,4%)) y solo el 6,5% ($n=8$) estaban en rango de bajo peso. La edad media de la menopausia fue de 45,76 años ($DE \pm 5,54$). (Tabla 8)

Tabla 8. Datos clínicos y epidemiológicos

Variables		Media	Desviación Estándar
Menopausia		45,76	5,54
Peso		62,41	11,25
Talla		15,81	6,92
		Frecuencia	Porcentaje
AF de Fx Cadera	SI	14	11,3%
	NO	110	88,7%
IMC	Bajo peso	8	6,5%
	Normo peso	30	24,2%
	Sobrepeso	86	69,4%

AF: antecedente familiar, Fx: fractura, IMC: índice de masa corporal (bajo peso: $IMC < 18$, normo peso $IMC 18,1-24,9$, sobrepeso $IMC > 25$).

Con respecto a los hábitos tóxicos el 86,3% y el 99,2% de las pacientes de la cohorte no fumaban y no eran bebedoras (n=123 y n=107 respectivamente). Una paciente era bebedora habitual (0,8%), 11 pacientes eran fumadoras (8,9%) y hubo 6 exfumadoras (4,8%). En nuestra cohorte no hubo ex alcohólicas. (Tabla anexa 1)

El 83,1% (n=103) de nuestras pacientes tenían fractura vertebral sintomática. El 66,1% sólo presentó fractura vertebral sin asociarse a fracturas no vertebrales. La media del número de fracturas vertebrales fue de 2,79 (DE \pm 1,99). (Tabla 9)

Tabla 9. Características de las fracturas.

Fracturas		Frecuencia	Porcentaje
Fx vertebral sintomática	SI	103	83,1%
	NO	21	16,9%
Fx vertebral y Fx no vertebrales	SI	42	33,9%
	NO	82	66,1%
		Media	DE
Nº Fx Vertebrales		2,79	1,99
Nº Fx no Vertebrales		1,48	0,79
Nº Fx totales		3,27	2,03

DE: desviación estándar, Fx: fractura.

Los valores de la densitometría ósea como son el BMD (bone mineral density), T score y Z score a nivel de la columna lumbar, de la cadera total y del cuello de fémur se reflejan en la tabla 10.

Tabla 10. Datos densitométricos.

Variables	Media	DE
BMD g/cm ² CL	0,829	0,142
BMD g/cm ² cadera total	0,679	0,130
BMD g/cm ² cuello del fémur	0,589	0,122
TS CL	-2,28	1,294
TS cadera total	-2,09	1,073
TS cuello del fémur	-2,26	1,038
ZS CL	0,08	1,357
ZS cadera total	-0,32	1,107
ZS cuello del fémur	-0,24	0,992

DE: Desviación estándar, BMD: bone mineral density, TS: T score, CL: columna lumbar, ZS: Z score.

Los datos analíticos de las pacientes de nuestra cohorte se recogen en la tabla 11, todos ellos estaban dentro de rangos normales. El estudio de la relación de paratohormona (PTH), Crosslaps y propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1 (P1NP) en función de los niveles de la vitamina D mostró una relación estadísticamente significativa en el caso del Crosslaps ($p=0,001$) ($r=-0,297$).

Tabla 11. Datos analíticos.

Variables	Media	Desviación Estándar
PTH	49,90	24,88
Vitamina D	27,90	14,68
Crosslaps	0,30	0,234
P1NP	34,22	22,75

PTH: paratohormona, P1NP: propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1.

Dentro del tratamiento que recibieron las pacientes los bisfosfonatos y la vitamina D fueron los medicamentos más usados, seguidos de la teriparatida y el denosumab (Tabla 12).

Tabla 12. Tratamientos

Tipo de Tratamiento		Frecuencia	Porcentaje
Bisfosfonatos	SI	114	91,9%
	NO	10	8,1%
Teriparatida	SI	47	37,9%
	NO	77	62,1%
Ranelato de Estroncio	SI	6	4,8%
	NO	118	95,2%
Denosumab	SI	52	41,9%
	NO	72	58,1%
THS	SI	5	4 %
	NO	119	96%
Vitamina D	SI	109	87,9%
	NO	15	12,1%

THS: Terapia Hormonal Sustitutiva.

Según el T score de columna lumbar y el T score de cadera, el 62,9% (n=78) de las pacientes tenían osteoporosis (OP) mientras que el 37,1% (n=46) presentaban osteopenia. La edad media de las pacientes con OP fue 76,97 años (DE \pm 8,61) y de 77,52 años (DE \pm 8,74) en el caso de las pacientes con osteopenia. El IMC de las pacientes con osteopenia fue estadísticamente superior al IMC de las pacientes con OP. En lo referente a la edad de la menopausia, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el subgrupo de pacientes con osteopenia y el de pacientes con OP. (Tabla 13)

Tabla 13. Variables clínicas en pacientes con osteoporosis y osteopenia

Variables		Media (DE)	p valor
EDAD	Osteopenia	77,52 (8,74)	p=0,734
	Osteoporosis	76,97 (8,61)	
IMC	Osteopenia	29,34 (4,18)	p=0,001
	Osteoporosis	26,47 (4,67)	
MENOPAUSIA	Osteopenia	45,09 (6,43)	p=0,303
	Osteoporosis	46,15 (4,94)	

DE: desviación estándar, IMC: índice de masa corporal.

Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en el consumo de alcohol y tabaco entre las pacientes osteopénicas y osteoporóticas. (Tabla anexa 2)

Nuestros resultados mostraron que las pacientes con OP tienen un mayor riesgo de sufrir fracturas no vertebrales. (Tabla 14)

Tabla 14. Fracturas vertebrales y asociadas a fracturas no vertebrales en pacientes con osteopenia y osteoporosis

Variables	Fx Vertebrales (%)	Fx V más Fx no V (%)	p valor	OR (IC 95%)
OSTEOPENIA	37 (45,1%)	9 (21,4%)		1
OSTEOPOROSIS	45 (54,9%)	33 (78,6%)	p=0,010	3,01 (1,28-7,09)

Fx V: fracturas vertebrales, OR: Odds Ratio, IC: intervalo de confianza.

De igual manera las pacientes con OP presentaban mayor número de fracturas totales que las pacientes con osteopenia. (Tabla 15)

Tabla 15. Número de fracturas en pacientes con osteopenia y osteoporosis.

Variables		Media (DE)	p valor
Nº Fx Vertebrales	Osteopenia	2,41 (1,73)	p=0,106
	Osteoporosis	3,01 (2,11)	
Nº Fx no Vertebrales	Osteopenia	1,58 (0,66)	p=0,633
	Osteoporosis	1,45 (0,85)	
Nº Fx totales	Osteopenia	2,80 (1,73)	p=0,048
	Osteoporosis	3,55 (2,16)	

DE: desviación estándar, Fx: fractura

Las pacientes osteoporóticas presentaban un BMD, T score y Z score de columna lumbar, de cadera total y de cuello de fémur estadísticamente inferior que las pacientes con osteopenia. (Tabla 16).

Tabla 16. Variables densitométricas en pacientes con osteoporosis y osteopenia.

Variables		Media (DE)	p valor
BMD g/cm ² CL	Osteopenia	0,94 (0,10)	p=<0,001
	Osteoporosis	0,76 (0,11)	
BMD g/cm ² cadera total	Osteopenia	0,79 (0,10)	p=<0,001
	Osteoporosis	0,61 (0,10)	
BMD g/cm ² cuello fémur	Osteopenia	0,68 (0,77)	p=<0,001
	Osteoporosis	0,53 (0,10)	
TS CL	Osteopenia	-1,20 (1,00)	p=<0,001
	Osteoporosis	-2,86 (1,04)	
TS Cadera total	Osteopenia	-1,21 (0,77)	p=<0,001
	Osteoporosis	-2,57 (0,89)	
TS cuello de fémur	Osteopenia	-1,45 (0,67)	p=<0,001
	Osteoporosis	-2,70 (0,93)	
ZS CL	Osteopenia	1,08 (1,06)	p=<0,001
	Osteoporosis	-0,50 (1,16)	
ZS Cadera total	Osteopenia	0,51 (0,78)	p=<0,001
	Osteoporosis	-0,80 (0,97)	
ZS cuello de fémur	Osteopenia	0,52 (0,70)	p=<0,001
	Osteoporosis	-0,67 (0,86)	

DE: Desviación estándar, BMD: bone mineral density. TS: T score, CL: columna lumbar, ZS: Z score

Además, nuestros resultados mostraron que las pacientes osteoporóticas tenían valores más elevados de FRAX (fracture risk assessment) para fractura mayor, FRAX para fractura de cadera, FRAX corregido con TBS (trabecular bone score) para fractura mayor y FRAX corregido con TBS para fractura de cadera que las pacientes osteopénicas. El valor del TBS era estadísticamente menor en las pacientes con OP. (Tabla 17)

Tabla 17. Herramientas de valoración para riesgo de fractura en pacientes con OP y osteopenia.

Variables		Media (DE)	p valor
TBS L2-L4	Osteopenia	1,23 (0,90)	p=0,040
	Osteoporosis	1,18 (0,10)	
FRAX Fx mayor	Osteopenia	11,92 (4,92)	p=<0,001
	Osteoporosis	20,71 (10,19)	
FRAX Fx cadera	Osteopenia	3,71 (2,63)	p=<0,001
	Osteoporosis	10,26 (8,29)	
FRAX más TBS Fx mayor	Osteopenia	12,51 (4,76)	p=<0,001
	Osteoporosis	21,26 (9,47)	
FRAX más TBS Fx cadera	Osteopenia	3,98 (2,59)	p=<0,001
	Osteoporosis	10,66 (8,13)	

DE: desviación estándar, TBS: trabecular bone score, FRAX: Fracture risk assessment, Fx: fractura.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de las variables analíticas en las pacientes con OP y osteopenia. (Tabla 18)

Tabla 18. Variables analíticas en pacientes con osteoporosis y osteopenia.

Variables		Media (DE)	p valor
PTH	Osteopenia	48,16 (18,64)	p=0,611
	Osteoporosis	50,82 (27,72)	
Vitamina D	Osteopenia	25,52 (11,33)	p=0,185
	Osteoporosis	29,25 (16,19)	
Crosslaps	Osteopenia	0,27 (0,24)	p=0,348
	Osteoporosis	0,32 (0,22)	
P1NP	Osteopenia	29,58 (19,21)	p=0,155
	Osteoporosis	36,93 (24,35)	

DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, P1NP: propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1.

El 33,9% (n=42) de las pacientes incluidas en nuestra cohorte presentaban también fracturas no vertebrales. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad, IMC, ni edad de menopausia entre las pacientes sólo con fractura vertebral y las que además sufrieron fracturas no vertebrales. (Tabla 19)

Tabla 19. Variables clínicas en pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.

Variables		Media (DE)	p valor
EDAD	Fx V	78,09 (8,38)	p=0,097
	Fx V más Fx no V	75,38 (8,91)	
IMC	Fx V	28,05 (4,61)	p=0,087
	Fx V más Fx no V	26,53 (4,74)	
MENOPAUSIA	Fx V	45,66 (6,00)	p=0,781
	Fx V más Fx no V	45,95 (4,56)	

DE: desviación estándar, IMC: índice de masa corporal, Fx. V: fractura vertebral.

El estudio de las variables densitométricas en función de si las pacientes habían sufrido fractura vertebral o también habían sufrido fracturas no vertebrales mostró que los valores del BMD a nivel de la cadera total y columna lumbar, del T score y del Z score de columna lumbar y de cadera total y del Z score del cuello del fémur, fueron más bajos en las pacientes que también sufrieron fracturas no vertebrales. (Tabla 20)

Tabla 20. Variables densitométricas en pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.

Variables	Fractura	Media (DE)	p valor
BMD g/cm ² CL	Fx V	0,85 (0,15)	p=0,005
	Fx V más Fx no V	0,77 (0,11)	
BMD g/cm ² cadera total	Fx V	0,71 (0,12)	p=≤0,001
	Fx V más Fx no V	0,61 (0,12)	
BMD g/cm ² cuello fémur	Fx V	0,59 (0,12)	p=0,179
	Fx V más Fx no V	0,56 (0,10)	
TS CL	Fx V	-2,05 (1,36)	p=0,006
	Fx V más Fx no V	-2,73 (1,00)	
TS cadera total	Fx V	-1,89 (1,01)	p=0,003
	Fx V más Fx no V	-2,51 (1,07)	
TS cuello fémur	Fx V	-2,17 (1,04)	p=0,162
	Fx V más Fx no V	-2,45 (1,00)	
ZS CL	Fx V	0,33 (1,40)	p=0,004
	Fx V más Fx no V	-0,44 (1,11)	
ZS cadera total	Fx V	-0,10 (1,04)	p=0,002
	Fx V más Fx no V	-0,78 (1,10)	
ZS cuello fémur	Fx V	-0,08 (0,99)	p=0,018
	Fx V más Fx no V	-0,55 (0,92)	

BMD: bone mineral density. DE: desviación estándar, TS: T score, CL: columna lumbar, ZS: Z score, Fx V: fracturas vertebrales.

Sin embargo, en el análisis del TBS, del FRAX para fractura mayor y fractura de cadera, y del FRAX corregido con el TBS para fractura mayor y fractura de cadera en función de si las pacientes habían sufrido fractura vertebral o también habían sufrido fractura no vertebral no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 21)

Tabla 21. Herramientas de valoración para riesgo de fractura en pacientes con fractura vertebral y fractura no vertebral.

Variables	Fractura	Media (DE)	p valor
TBS L2-L4	Fx V	1,217 (0,979)	p=0,142
	Fx V más Fx no V	1,183 (0,115)	
FRAX Fx mayor	Fx V	16,971 (9,400)	p=0,527
	Fx V más Fx no V	18,224 (9,999)	
FRAX Fx cadera	Fx V	7,310 (7,065)	p=0,345
	Fx V más Fx no V	8,760 (8,157)	
FRAX más TBS FX mayor	Fx V	17,058 (8,480)	p=0,271
	Fx V más Fx no V	19,311 (10,051)	
FRAX más TBS Fx cadera	Fx V	7,325 (6,695)	p=0,194
	Fx V más Fx no V	9,471 (8,364)	

DE: desviación estándar, Fx: fractura vertebral, TBS: trabecular bone score, FRAX: Fracture risk assessment

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas al analizar las variables analíticas en función de si las pacientes además habían sufrido fracturas no vertebrales. (Tabla anexa 3)

En función de los valores de TBS las pacientes se clasificaron en normales, con degradación parcial y con degradación. 41 pacientes (33,1%) estaban en rango de degradación, 35 (28,2%) presentaban degradación parcial y 17 (13,7%) fueron normales. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad, en el IMC, ni en la edad de menopausia entre las pacientes normales, parcialmente degradadas y degradadas. (Tabla 22)

Tabla 22. TBS y variables clínicas.

Variables	TBS	Media (DE)	p valor
EDAD	Normal	76,41 (9,26)	p=0,432
	Degradado parcial	77,65 (7,11)	
	Degradado	75,00 (10,01)	
IMC	Normal	27,05 (5,33)	p=0,145
	Degradado parcial	26,14 (3,61)	
	Degradado	28,24 (5,02)	
MENOPAUSIA	Normal	46,88 (4,68)	p=0,785
	Degradado parcial	46,43 (5,29)	
	Degradado	45,88 (5,50)	

DE: desviación estándar, IMC: índice de masa corporal

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el nivel de degradación de nuestras pacientes según el TBS y el número de fracturas vertebrales, el número de fracturas no vertebrales y el número de fracturas totales, sin embargo, se observa que la media del número de fracturas es superior en los pacientes con TBS normal. (Tabla 23)

Tabla 23. TBS y número de fracturas.

Variables	TBS	Media (DE)	p valor
Nº Fx Vertebrales	Normal	3,23 (2,136)	p=0,463
	Degradado parcial	2,77 (1,986)	
	Degradado	2,53 (1,831)	
Nº Fx no Vertebrales	Normal	2 (2)	p=0,285
	Degradado parcial	1,20 (0,421)	
	Degradado	1,38 (0,506)	
Nº Fx totales	Normal	3,64 (2,262)	p=0,445
	Degradado parcial	3,11 (1,859)	
	Degradado	2,90 (2,047)	

TBS: trabecular bone score, DE: desviación estándar, Fx: fractura

En el análisis entre el nivel de degradación de las pacientes según el TBS y los antecedentes de fracturas no vertebrales tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 24)

Tabla 24. TBS en pacientes con fracturas vertebrales y fracturas no vertebrales.

TBS	Fx Vertebral (%)	Fx V y Fx no vertebral (%)	p valor
Normal	13 (20,3%)	4 (13,8%)	p=0,568
Degradado parcial	25 (39,1%)	10 (34,5%)	
Degradado	26 (40,6%)	15 (51,7%)	

TBS: trabecular bone score, Fx V: fractura vertebral.

En cuanto al análisis entre el grado de degradación según el TBS y si las pacientes eran osteoporóticas u osteopénicas, tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, si se observó que había predominio de pacientes con OP dentro del rango de degradado. (Tabla 25)

Tabla 25. TBS en pacientes con osteopenia y osteoporosis.

	NORMAL	DEGRADADO PARCIAL	DEGRADADO	p valor
OSTEOPENIA (%)	9 (52,9%)	17 (48,6%)	11 (26,8%)	p=0,073
OSTEOPOROSIS (%)	8 (47,1%)	18 (51,4%)	30 (73,2%)	

En el análisis entre TBS y las variables densitométricas, se encontró que las pacientes con un TBS correspondiente a degradado presentaban valores de BMD, T Score y Z Score de columna lumbar más bajos en comparación a las pacientes con TBS normal y degradado parcial. De igual manera el valor de BMD de cuello de fémur fue más bajo en las pacientes con TBS degradado en comparación al grupo con TBS normal; y el valor de Z Score de cadera total fue más bajo en pacientes con TBS degradado que en pacientes con TBS degradado parcial. (Tabla 26)

Tabla 26. TBS y variables densitométricas

Variables	TBS	Media (DE)	p valor
BMD g/cm ² CL	Normal	0,92 (0,137)	N vs DP p=0,159
	Degradado parcial	0,87 (0,145)	N vs D p= <0,001
	Degradado	0,77 (0,128)	DP vs D p=0,005
BMD g/cm ² cadera total	Normal	0,71 (0,145)	p=0,254
	Degradado parcial	0,71 (0,128)	
	Degradado	0,67 (0,110)	
BMD g/cm ² cuello fémur	Normal	0,64 (0,119)	N vs DP p=0,484
	Degradado parcial	0,61 (0,109)	N vs D p= <0,035
	Degradado	0,56 (0,129)	DP vs D p=0,077
TS CL	Normal	-1,39 (1,211)	N vs DP p=0,178
	Degradado parcial	-1,90 (1,348)	N vs D p= <0,001
	Degradado	-2,71 (1,155)	DP vs D p=0,005
TS cadera total	Normal	-1,84 (1,198)	p=0,453
	Degradado parcial	-1,87 (1,059)	
	Degradado	-2,14 (1,014)	
TS cuello fémur	Normal	-1,90 (1,076)	p=0,175
	Degradado parcial	-2,08 (1,041)	
	Degradado	-2,39 (0,929)	
ZS CL	Normal	0,80 (1,236)	N vs DP p=0,493
	Degradado parcial	0,53 (1,365)	N vs D p=0,002
	Degradado	-0,45 (1,273)	DP vs D p=0,002
ZS cadera total	Normal	-0,18 (1,190)	N vs DP p=0,477
	Degradado parcial	0,03 (1,011)	N vs D p= <0,336
	Degradado	-0,46 (0,918)	DP vs D p=0,038
ZS cuello fémur	Normal	0,05 (1,041)	p=0,086
	Degradado parcial	-0,01 (0,966)	
	Degradado	-0,42 (0,787)	

TBS: trabecular bone score, DE: desviación estándar, BMD: bone mineral density, N: normal, DP: degradado parcial, D: degradado, TS: T score, CL: columna lumbar ZS: Z score

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las variables analíticas y las pacientes con TBS normal, degradado parcial y degradado. (Tabla anexa 4)

4.2 FRAGILIDAD.

Siguiendo los criterios de Fried las pacientes se clasificaron en robustas, prefrágiles y frágiles. Un 47,6% (n=59) eran pacientes prefrágiles, 55 pacientes (44,3%) eran frágiles y 10 pacientes fueron categorizados como robustas (8,1%).

En el análisis entre fragilidad e IMC se encontró que las pacientes robustas presentaban un IMC mayor en comparación a las pacientes prefrágiles; y al comparar con la edad, los resultados mostraron que las pacientes robustas eran más jóvenes en comparación a las pacientes prefrágiles y frágiles. (Tabla 27)

Tabla 27. Fragilidad y variables clínicas.

Variables	Fragilidad	Media (DE)	p valor
EDAD	Robusto	69,20 (9,34)	Robusto vs Prefrágil p=0,001
	Prefrágil	79,22 (7,30)	Robusto vs Frágil p=0,012
	Frágil	76,43 (8,99)	Frágil vs Prefrágil p=0,074
IMC	Robusto	29,91 (2,13)	Robusto vs Prefrágil p=0,036
	Prefrágil	28,28 (5,38)	Robusto vs frágil p=0,151
	Frágil	27,21 (4,04)	Frágil vs Prefrágil p=0,224
MENOPAUSIA	Robusto	46,60 (5,12)	p=0,649
	Prefrágil	45,29 (5,56)	
	Frágil	46,11 (5,64)	

DE: desviación estándar, IMC: índice de masa corporal

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis entre el número de fracturas sufridas por las pacientes y la fragilidad de las mismas. (Tabla 28)

Tabla 28. Fragilidad y número de fracturas

Variables	Fragilidad	Media (DE)	p valor
Nº de Fx vertebrales	Robusto	2,3 (1,70)	P >0,05
	Prefrágil	2,8 (1,91)	
	Frágil	2,8 (2,14)	
Nº de Fx no vertebrales	Robusto	1,5 (0,57)	P >0,05
	Prefrágil	1,5 (0,66)	
	Frágil	1,4 (1,03)	
Nº de Fx totales	Robusto	2,9 (1,66)	P >0,05
	Prefrágil	3,4 (1,91)	
	Frágil	3,2 (2,23)	

DE: desviación estándar, Fx: fractura

Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas entre fragilidad y el antecedente de fracturas no vertebrales. De igual manera, no se encontró asociación entre fragilidad y en número de fracturas vertebrales, es decir, los datos indican que no influye el estadio de fragilidad para que las pacientes presenten < de 3 fracturas o > de 3 fracturas. (Tablas 29 y 30)

Tabla 29. Fragilidad y pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.

Fragilidad	Fx Vertebrales (%)	Fx Vertebrales y Fx no V	P valor
ROBUSTO	6 (7,3%)	4 (9,5%)	p=0,596
PREFRAGIL	37 (45,1%)	22 (52,4%)	
FRAGIL	39 (47,6%)	16 (38,1%)	

Fx: fracturas

Tabla 30. Fragilidad y fracturas vertebrales.

FRAGILIDAD	Fx V < 3 (%)	Fx V ≥ 3 (%)	p valor
ROBUSTO	6 (8,6%)	4 (7,4%)	p=0,971
PREFRAGIL	33 (47,1%)	26 (48,1%)	
FRAGIL	31 (44,3%)	24 (44,4%)	

Fx V: fractura vertebral

Por otra parte, nuestro estudio mostró que la fragilidad de las pacientes no influye para que éstas sean osteopénicas u osteoporóticas (p-valor=0,145). (Tabla 31)

Tabla 31. Fragilidad en pacientes con osteoporosis y osteopenia.

Fragilidad	Osteopenia (%)	Osteoporosis (%)	p valor
ROBUSTO	1 (2,2%)	9 (11,5%)	p=0,145
PREFRAGIL	25 (54,3%)	34 (43,6%)	
FRAGIL	20 (43,5%)	35 (44,9%)	

Los resultados de la comparación entre fragilidad y variables densitométricas se muestran en la tabla x. Nuestros resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en el BMD de columna lumbar ya que éste es más bajo en las pacientes robustas con respecto a las pacientes prefrágiles, de igual manera los valores de ZS de columna lumbar y cuello de fémur son menores en las pacientes robustas en comparación a las pacientes prefrágiles y frágiles. (Tabla 32)

Tabla 32. Fragilidad y variables densitométricas

Variables	Fragilidad	Media (DE)	p valor
BMD g/cm ² CL	Robusto	0,746 (0,106)	Robusto vs Prefrágil p=0,042
	Prefrágil	0,846 (0,135)	Robusto vs Frágil p=0,101
	Frágil	0,826 (0,152)	Prefrágil vs Frágil p=0,472
BMD g/cm ² cadera total	Robusto	0,643 (0,695)	P >0,05
	Prefrágil	0,671 (0,148)	
	Frágil	0,695 (0,118)	
BM g/cm ² cuello fémur	Robusto	0,550 (0,635)	P >0,05
	Prefrágil	0,596 (0,120)	
	Frágil	0, 589 (0,133)	
TS CL	Robusto	-3,01 (1,01)	P >0,05
	Prefrágil	-2,14 (1,21)	
	Frágil	-2,29 (1,38)	
TS cadera total	Robusto	-2,42 (0,51)	P >0,05
	Prefrágil	-2,16 (1,15)	
	Frágil	-1,97 (1,05)	
TS cuello fémur	Robusto	-2,50 (0,64)	P >0,05
	Prefrágil	-2,28 (1,07)	
	Frágil	-2,20 (1,06)	
ZS CL	Robusto	-0,93 (1,17)	Robusto vs Prefrágil p=0,008
	Prefrágil	0,31 (1,26)	Robusto vs Frágil p=0,033
	Frágil	0,05 (1,40)	Prefrágil vs Frágil p=0,333
ZS cadera total	Robusto	-0,95 (0,71)	P >0,05
	Prefrágil	-0,23 (1,21)	
	Frágil	-0,29 (1,04)	
ZS cuello fémur	Robusto	-0,95 (0,73)	Robusto vs Prefrágil p=0,015
	Prefrágil	-0,12 (1,06)	Robusto vs Frágil p=0,031
	Frágil	-0,22 (0,92)	Prefrágil vs Frágil p=0,607

DE: desviación estándar, BMD: bone mineral density, TS: T score, CL: columna lumbar, ZS: Z score.

Al analizar el TBS y el FRAX para fractura mayor, para fractura de cadera, el FRAX corregido con TBS para fractura mayor y fractura de cadera en fragilidad no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo, se observó que las pacientes frágiles presentaban un TBS en rango de degradado. (Tabla 33)

Tabla 33. Fragilidad y herramientas de evaluación para riesgo de fractura.

Variables	Fragilidad	Media (DE)	p valor
TBS L2-L4	Robusto	1,213 (0,070)	P >0,05
	Prefrágil	1,214 (0,105)	
	Frágil	1,198 (0,110)	
FRAX FX Mayor	Robusto	17,32 (10,60)	P >0,05
	Prefrágil	17,33 (9,25)	
	Frágil	17,42(9,86)	
FRAX cadera	Robusto	9,39 (9,84)	P >0,05
	Prefrágil	7,71 (7,47)	
	Frágil	7,51 (6,95)	
FRAX más TBS Fx Mayor	Robusto	19,08 (10,89)	P >0,05
	Prefrágil	17,83 (9,31)	
	Frágil	17,41 (8,52)	
FRAX más TBS Fx cadera	Robusto	10,60 (10,00)	P >0,05
	Prefrágil	8,37 (7,79)	
	Frágil	7,14 (6,17)	

DE: desviación estándar, TBS: trabecular bone score, FRAX: Fracture risk assessment.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el estudio de las variables analíticas en función de la fragilidad de las pacientes. (Tabla anexa 5)

Debido a la influencia que tiene el consumo de corticoides sobre la densidad ósea y por lo tanto sobre el riesgo de fractura, hemos dedicado un apartado al análisis del uso de corticoides en las pacientes incluidas en nuestra cohorte.

El 19,4% (n= 24) de las pacientes consumían de forma crónica corticoides. El uso de los mismos se debió a enfermedades asociadas que precisaban de su uso para su control; 20 pacientes también padecían Artritis Reumatoide, 2 pacientes Polimialgia reumática, y 2 pacientes Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. En la tabla 34 se muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas en la edad, IMC y edad de menopausia con respecto al uso de corticoides.

Tabla 34. Corticoides y variables clínicas.

Variables	Corticoides	Media (DE)	p valor
EDAD	SI	75,25 (6,81)	p=0,225
	NO	77,64 (8,97)	
IMC	SI	27,20 (5,06)	p=0,696
	NO	27,61 (4,62)	
MENOPAUSIA	SI	46,21 (6,23)	p=0,660
	NO	45,65 (5,39)	

DE: desviación estándar, IMC: índice de masa corporal

En el análisis entre el uso de corticoides y el número de fracturas vertebrales, no vertebrales y número de fracturas totales, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 35)

Tabla 35. Fracturas y corticoides.

Variables	Corticoides	Media (DE)	p valor
Nº Fx Vertebrales	SI	2,50 (1,79)	p=0,430
	NO	2,86 (2,04)	
Nº Fx no Vertebrales	SI	1,50 (0,53)	p=0,964
	NO	1,48 (0,85)	
Nº Fx total	SI	3,00 (1,81)	p=0,465
	NO	3,34 (2,09)	

DE: desviación estándar, Fx: fractura

Tampoco se encontraron diferencias entre las pacientes con fractura vertebral y las pacientes que también sufrieron fracturas no vertebrales y el uso de corticoides, sin embargo, se observó que la mayoría 15 de las pacientes que tomaban corticoides presentaban sólo fracturas vertebrales y no asociadas a fracturas no vertebrales. (Tabla 36)

Tabla 36. Corticoides y fracturas vertebrales.

Variables	CORTICOIDES		p valor
	SI	NO	
Fx vertebrales	15(62,5%)	67 (67,0%)	p=0,676
Fx vertebrales y Fx no V	9 (37,5%)	33 (33%)	

Fx: fractura, V: vertebrales.

No se encontró diferencia estadísticamente significativa en el uso de corticoides entre las pacientes osteopénicas y los pacientes con OP y tampoco al analizar la asociación entre el uso de corticoides y la fragilidad. (Tablas anexas 6 y 7)

Los resultados del análisis de la influencia del uso de corticoides sobre las variables cuantitativas densitométricas se describen en la tabla 37, donde se muestra que el uso de corticoides no las modifica.

Tabla 37. Uso de corticoides y variables densitométricas.

Variables	Corticoides	Media (DE)	p valor
BMD g/cm ² CL	SI	0,829 (0,156)	p=0,983
	NO	0,828 (0,140)	
BMD g/cm ² cadera total	SI	0,710 (0,146)	p=0,229
	NO	0,672 (0,126)	
BMD g/cm ² cuello fémur	SI	0,609 (0,106)	p=0,414
	NO	0,585 (0,125)	
TS CL	SI	-2,25 (1,448)	p=0,892
	NO	-2,29 (1,265)	
TS cadera total	SI	-1,82 (1,253)	p=0,178
	NO	-2,16 (1,026)	
TS cuello fémur	SI	-2,08 (1,080)	p=0,360
	NO	-2,30 (1,029)	
ZS CL	SI	-0,14 (1,481)	p=0,410
	NO	0,13 (1,329)	
ZS cadera total	SI	-0,23 (1,191)	p=0,652
	NO	-0,35 (1,092)	
ZS cuello fémur	SI	-0,22 (0,956)	p=0,936
	NO	-0,24 (1,006)	

DE: desviación estándar, BMD: bone mineral density, TS: T score, ZS: Z score, Fx V: fracturas vertebrales

En el análisis de la influencia de la toma de corticoides sobre las herramientas de valoración para riesgo de fractura se observó que los valores de FRAX para fractura mayor, FRAX de cadera y FRAX corregido con TBS para fractura mayor eran mayores en las pacientes con toma de corticoides. (Tabla 38)

Tabla 38. Corticoides y herramientas de valoración para el riesgo de fractura.

Variables	Corticoides	Media (DE)	p valor
TBS L2-L4	SI	1,189 (0,139)	p=0,460
	NO	1,210 (0,095)	
FRAX Fx mayor	SI	23,720 (12,221)	p=0,001
	NO	15,936 (8,286)	
FRAX Fx cadera	SI	12,015 (11,362)	p=0,004
	NO	6,817 (5,885)	
FRAX más TBS Fx mayor	SI	22,547 (11,348)	p=0,014
	NO	16,655 (8,066)	
FRAX más TBS Fx cadera	SI	11,076 (10,779)	p=0,051
	NO	7,276 (6,089)	

DE: desviación estándar, TBS: trabecular bone score

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la comparación del uso de corticoides y de los niveles serológicos de los marcadores de remodelado óseo, los niveles de PTH, y los niveles de vitamina D. (Tabla anexa 8)

4.3 ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS DE GENES DE AUTOFAGIA

El análisis de la distribución genotípica de los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 entre los individuos sanos y las pacientes incluidas en nuestro estudio, puso de manifiesto que el genotipo CT y el ser portadora del alelo T del polimorfismo rs1864183 ATG10 se asocia con un menor riesgo de presentar fractura vertebral. (Tabla 39)

Tabla 39. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 en individuos sanos y pacientes con fracturas.

GEN	SNP	Controles (%)	Ptes con Fx (%)	p valor	OR (IC)
ATG2B rs3759601	CC	21 (16,9%)	13 (10,5%)	p=0,319	
	CG	59 (47,6%)	66 (53,2%)		
	GG	44 (35,5%)	45 (36,3%)		
	CC + CG	80 (64,5%)	79 (63,7%)	p=0,895	
	GG	44 (35,5%)	45 (36,3%)		
	CC	21 (16,9%)	13 (10,5%)	p=0,140	
	CG + GG	103 (83,1%)	111 (89,5%)		
ATG10 rs1864183	CC	21 (16,9%)	39 (31,5%)		1
	CT	80 (64,5%)	56 (45,1%)	p=0,002	0,377 (0,201-0,708)
	TT	23 (18,6%)	29 (23,4%)	p=0,319	0,679 (0,317-1,455)
	CC + CT	101 (81,4%)	95 (76,6%)	p=0,349	
	TT	23 (18,6%)	29 (23,4%)		
	CC	21 (16,9%)	39 (31,5%)		1
	CT + TT	103 (83,1%)	85 (68,5%)	p=0,008	0,444 (0,243-0,812)
ATG16L1 rs2241880	TT	20 (16,1%)	24 (19,3%)	p=0,801	
	TC	72 (58,1%)	69 (55,6%)		
	CC	32 (25,8%)	31 (25,1%)		
	TT + TC	92 (74,2%)	93 (74,9%)	p=0,884	
	CC	32 (25,8%)	31 (25,1%)		
	TT	20 (16,1%)	24 (19,3%)	p=0,506	
	TC + CC	104 (83,9%)	100 (80,7%)		
ATG 5 rs2245214	CC	46 (37,1%)	53 (42,7%)	p=0,227	
	CG	61 (49,2%)	62 (50,1%)		
	GG	17 (13,7%)	9 (7,2%)		
	CC + CG	107 (86,3%)	115 (92,8%)	p=0,097	
	GG	17 (13,7%)	9 (7,2%)		
	CC	46 (37,1%)	53 (42,7%)	p=0,364	
	CG + GG	78 (62,9%)	71 (57,3%)		

OR: Odds Ratio, IC: intervalo de confianza, Ptes: pacientes, Fx: fractura>

Al analizar la asociación entre el IMC y la distribución genotípica de los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla anexa 9)

Por otra parte, al analizar la distribución genotípica de los polimorfismos rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10 y rs2241880 ATG16L1 en las pacientes con OP y osteopenia no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, el ser portadora del alelo G del polimorfismo rs2245214 ATG5 se asocia a una menor probabilidad de sufrir OP. (Tabla 40)

Tabla 40. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 en pacientes con osteoporosis y osteopenia.

SNP	Genotipo	Osteopenia (%)	Osteoporosis (%)	p valor	OR (IC)
ATG2B rs3759601	CC	2 (4,3%)	12 (15,4%)	p=0,055	
	CG	29 (63,1%)	34 (43,6%)		
	GG	15 (32,6%)	32 (41%)		
	CC + CG	31 (67,4%)	46 (59%)	p=0,351	
	GG	15 (32,6%)	32 (41%)		
	CC	2 (4,3%)	12 (15,4%)	p=0,061	
	CG + GG	44 (95,7%)	66 (84,6%)		
ATG10 rs1864183	CC	14 (30,4 %)	23 (29,5%)	p=0,946	
	CT	22 (47,9%)	36 (46,1%)		
	TT	10 (21,7%)	19 (24,4%)		
	CC + CT	36 (78,3%)	59 (75,6%)	p= 0,739	
	TT	10 (21,7%)	19 (24,4%)		
	CC	14 (30,4%)	23 (29,5%)	p=0,911	
	CT + TT	32 (69,6%)	55 (70,5%)		
ATG16L1 rs2241880	TT	13 (28,3%)	14 (17,9%)	p=0,315	
	TC	25 (54,3%)	44 (56,5%)		
	CC	8 (17,4%)	20 (25,6%)		
	TT + TC	38 (82,6%)	58 (74,4%)	p=0,289	
	CC	8 (17,4%)	20 (25,6%)		
	TT	13 (28,3%)	14 (17,9%)	p=0,179	
	TC + CC	33 (71,7%)	64 (82,1%)		
ATG 5 rs2245214	CC	14 (30,4%)	39 (50%)	p=0,081	
	CG	26 (56,6%)	34 (43,6%)		
	GG	6 (13 %)	5 (6,4%)		
	CC + CG	40 (87%)	73 (93,6%)	p=0,209	
	GG	6 (13 %)	5 (6,4%)		
	CC	14 (30,4%)	39 (50%)		1
	CG + GG	32 (69,6%)	39 (50%)	p=0,035	0,438 (0,20-0,94)

En el análisis entre las pacientes que sufrieron o no sufrieron fracturas no vertebrales y la distribución genotípica de los polimorfismos rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 41)

Tabla 41. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 y pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.

SNP	Genotipo	Fx Vertebral (%)	Fx no Vertebral (%)	p valor
ATG2B rs3759601	CC	8 (9,8%)	6 (14,3%)	p=0,291
	CG	39 (47,5%)	24 (57,1%)	
	GG	35 (42,7%)	12 (28,6%)	
	CC + CG	47 (57,3%)	30 (71,4%)	p=0,125
	GG	35 (42,7%)	12 (28,6%)	
	CC	8 (9,8%)	6 (14,3%)	p=0,451
	CG + GG	74 (90,2%)	36 (85,7%)	
ATG10 rs1864183	CC	28 (34,1%)	9 (21,4%)	p=0,305
	CT	37 (45,2%)	21 (50%)	
	TT	17 (20,7%)	12 (28,6%)	
	CC + CT	65 (79,3%)	30 (71,4%)	p= 0,329
	TT	17 (20,7%)	12 (28,6%)	
	CC	28 (34,1%)	9 (21,4%)	p=0,143
	CT + TT	54 (65,9%)	33 (78,6%)	
ATG16L1 rs2241880	TT	19 (23,2%)	8 (19%)	p=0,867
	TC	45 (54,8%)	24 (57,2%)	
	CC	18 (22%)	10 (23,8%)	
	TT + TC	64 (78%)	32 (76,2%)	p=0,815
	CC	18 (22%)	10 (23,8%)	
	TT	19 (23,2%)	8 (19%)	p=0,599
	TC + CC	63 (76,8%)	34 (81%)	
ATG 5 rs2245214	CC	31 (37,8%)	22 (52,4%)	p=0,299
	CG	43 (52,4%)	17 (40,5%)	
	GG	8 (9,8%)	3 (7,1%)	
	CC + CG	74 (90,2%)	39 (92,9%)	p=0,628
	GG	8 (9,8%)	3 (7,1%)	
	CC	31 (37,8%)	22 (52,4%)	p=0,120
	CG + GG	51 (62,2%)	20 (47,6%)	

Fx: fractura.

En el análisis entre la distribución genotípica de los polimorfismos de los genes de autofagia incluida en nuestro estudio y el número de fracturas vertebrales y el número de fracturas no vertebrales, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tablas anexas 10 y 11)

Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución genotípica de los polimorfismos rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 en pacientes robustas, prefrágiles y frágiles. (Tabla 42)

Tabla 42. Fragilidad y distribución genotípica para los polimorfismos de rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5.

SNP	Genotipo	ROBUSTO	PREFRAGIL	FRAGIL	P-VALOR
ATG2B rs3759601	CC	3 (30%)	5 (8,5%)	6 (10,9%)	p=0,236
	CG	5 (50%)	33 (55,9%)	25 (45,5%)	
	GG	2 (20 %)	21 (35,6%)	24 (43,6%)	
	CC + CG	8 (80%)	38 (64,4%)	31 (56,4%)	p=0,322
	GG	2 (20%)	21 (35,6%)	24 (43,6%)	
	CC	3 (30%)	5 (8,5%)	6 (10,9%)	p=0,137
	CG + GG	7 (70%)	54 (91,5%)	49 (89,1%)	
ATG10 rs1864183	CC	2 (20%)	20 (33,9%)	15 (27,3%)	p=0,265
	CT	3 (30%)	26 (44,1%)	29 (52,7%)	
	TT	5 (50%)	13 (22%)	11 (20%)	
	CC + CT	5 (50%)	46 (78%)	44 (80%)	p=0,113
	TT	5 (50%)	13 (22%)	11 (20%)	
	CC	2 (20%)	20 (33,9%)	15 (27,3%)	p=0,577
	CT + TT	8 (80%)	39 (66,1%)	40 (72,7%)	
ATG16L1 rs2241880	TT	1 (10%)	11 (18,6%)	15 (27,3%)	p=0,675
	TC	6 (60%)	35 (59,4%)	28 (50,9%)	
	CC	3 (30%)	13 (22%)	12 (21,8%)	
	TT + TC	7 (70%)	46 (78%)	43 (78,2%)	p=0,842
	CC	3 (30%)	13 (22%)	12 (21,8%)	
	TT	1 (10%)	11 (18,6%)	15 (27,3%)	p=0,345
	TC + CC	9 (90%)	48 (81,4%)	40 (72,7%)	
ATG5 rs2245214	CC	6 (60%)	24 (40,7%)	23 (41,8%)	p=0,767
	CG	3 (30 %)	29 (49,1%)	28 (50,9%)	
	GG	1 (10%)	6 (10,2%)	4 (7,3%)	
	CC + CG	9 (90%)	53 (89,8%)	51 (92,7%)	p=0,855
	GG	1 (10%)	6 (10,2%)	4 (7,3%)	
	CC	6 (60%)	24 (40,7%)	23 (41,8%)	p=0,512
	CG + GG	4 (40%)	35 (59,3%)	32 (58,2%)	

En el análisis entre la distribución genotípica para los polimorfismos rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 de los genes de autofagia y el nivel de degradación en función del TBS no se encontraron diferencias significativas. (Tabla 43)

Tabla 43. Distribución genotípica para los polimorfismos de rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 y TBS.

SNP	Genotipo	NORMAL	DEGRADADO PARCIAL	DEGRADADO	P-VALOR
ATG2B rs3759601	CC	2 (11,8%)	6 (17,1%)	5 (12,2%)	p=0,841
	CG	7 (41,1%)	17 (48,6%)	22 (53,7%)	
	GG	8 (47,1%)	12 (34,3%)	14 (34,1%)	
	CC + CG	9 (52,9%)	23 (65,7%)	27 (65,9%)	p=0,610
	GG	8 (47,1%)	12 (34,3%)	14 (34,1%)	p=0,791
	CC	2 (11,8%)	6 (17,1%)	5 (12,2%)	
	CG + GG	15 (88,2%)	29 (82,9%)	36 (87,8%)	
ATG10 rs1864183	CC	4 (23,5%)	10 (28,6%)	13 (31,7%)	p=0,681
	CT	7 (41,2%)	17 (48,5%)	21 (51,2%)	
	TT	6 (35,3%)	8 (22,9%)	7 (17,1%)	
	CC + CT	11 (64,7%)	27 (77,1%)	34 (82,9%)	p=0,319
	TT	6 (35,3%)	8 (22,9%)	7 (17,1%)	p=0,820
	CC	4 (23,5%)	10 (28,6%)	13 (31,7%)	
	CT + TT	13 (76,5%)	25 (71,4%)	28 (68,3%)	
ATG16L1 rs2241880	TT	3 (17,6%)	10 (28,6%)	8 (19,5%)	p=0,812
	TC	11 (64,8%)	18 (51,4%)	23 (56,1%)	
	CC	3 (17,6%)	7 (20%)	10 (24,4%)	
	TT + TC	14 (82,4%)	28 (80%)	31 (75,6%)	p=0,819
	CC	3 (17,6%)	7 (20%)	10 (24,4%)	p=0,555
	TT	3 (17,6%)	10 (28,6%)	8 (19,5%)	
	TC + CC	14 (82,4%)	25 (71,4%)	33 (80,5%)	
ATG5 rs2245214	CC	6 (35,3%)	15 (42,9%)	18 (43,9%)	p=0,720
	CG	10 (58,8%)	15 (42,9%)	20 (48,8%)	
	GG	1 (5,9%)	5 (14,3%)	3 (7,3%)	
	CC + CG	16 (94,1%)	30 (85,7%)	38 (92,7%)	p=0,499
	GG	1 (5,9%)	5 (14,3%)	3 (7,3%)	p=0,825
	CC	6 (35,3%)	15 (42,9%)	18 (43,9%)	
	CG + GG	11 (64,7%)	20 (57,1%)	23 (56,1%)	

Las pacientes con el genotipo CC para el polimorfismo rs3759601 del gen ATG2B presentaban valores mayores de FRAX de cadera, FRAX de fractura mayor y FRAX corregido con TBS para fractura de cadera en comparación con las pacientes portadoras del genotipo CG. Además, las pacientes portadoras del alelo G presentaban valores menores de FRAX corregido con TBS para fractura de cadera. (Tabla 44)

Tabla 44. Distribución genotípica para el polimorfismo rs3759601 ATG2B y herramientas de valoración de riesgo de fractura.

Variables	Genotipo	Media (DE)	Comparaciones. P valor
TBS L2-L4	CC	1,214 (0,101)	p=0,715
	CG	1,197 (0,106)	
	GG	1,216 (0,104)	
	CC + CG	1,201 (0,105)	p=0,521
	GG	1,216 (0,104)	
	CC	1,214 (0,101)	p=0,771
	CG + GG	1,205 (0,105)	
FRAX Fx mayor	CC	21,071 (10,737)	CC vs CG p=0,049
	CG	15,443 (8,975)	CC vs GG p=0,419
	GG	18,695 (9,565)	CG vs GG p=0,101
	CC + CG	16,602 (9,557)	p=0,274
	GG	18,695 (9,565)	
	CC	21,071 (10,737)	p=0,122
	CG + GG	16,827 (9,321)	
FRAX Fx cadera	CC	11,350 (9,096)	CC vs CG p=0,037
	CG	6,696 (7,396)	CC vs GG p=0,144
	GG	7,993 (6,579)	CG vs GG p=0,399
	CC + CG	7,654 (7,932)	p=0,821
	GG	7,993 (6,579)	
	CC	11,350 (9,096)	p=0,054
	CG + GG	7,248 (7,052)	
FRAX más TBS FX mayor	CC	21,392 (10,386)	p=0,141
	CG	16,091 (8,737)	
	GG	18,535 (8,504)	
	CC + CG	17,279 (9,306)	p=0,521
	GG	18,535 (8,504)	
	CC	21,392 (10,386)	p=0,115
	CG + GG	17,143 (8,668)	
FRAX más TBS Fx cadera	CC	12,000 (9,442)	CC vs CG p=0,029
	CG	7,002 (7,352)	CC vs GG p=0,070
	GG	8,122 (8,057)	CG vs GG p=0,654
	CC + CG	7,732 (5,772)	p=0,805
	GG	7,732 (5,772)	
	CC	12,000 (9,442)	p=0,030
	CG + GG	7,316 (6,687)	

DE: desviación estándar, TBS: trabecular bone score, Fx: fractura.

Al analizar las variables analíticas en la distribución genotípica para el polimorfismo rs3759601 del gen ATG2B, se encontró que el ser portadora del alelo G representa tener niveles menores de vitamina D. (Tabla 45)

Tabla 45. Distribución genotípica para el polimorfismo rs3759601 ATG2B y variables analíticas.

Variables	Genotipo	Media (DE)	Comparaciones. P valor
PTH	CC	41,90 (20,55)	p=0,335
	CG	52,81 (27,50)	
	GG	48,39 (21,98)	
	CC + CG	50,77 (26,54)	p=0,645
	GG	48,39 (21,98)	
	CC	41,90 (20,55)	p=0,238
	CG + GG	50,97 (25,31)	
Vitamina D	CC	35,97 (24,81)	p=0,074
	CG	27,58 (13,35)	
	GG	25,81 (11,50)	
	CC + CG	29,17 (16,26)	p=0,228
	GG	25,81 (11,50)	
	CC	35,97 (24,81)	p=0,028
	CG + GG	26,82 (12,56)	
CROSSLAPS	CC	0,357 (0,219)	p=0,281
	CG	0,268 (0,216)	
	GG	0,342 (0,256)	
	CC + CG	0,280 (0,217)	p=0,215
	GG	0,342 (0,256)	
	CC	0,357 (0,219)	p=0,507
	CG + GG	0,299 (0,236)	
P1NP	CC	34,48 (16,36)	p=0,918
	CG	35,13 (22,31)	
	GG	32,94 (24,92)	
	CC + CG	35,04 (21,45)	p=0,682
	GG	32,94 (24,92)	
	CC	34,48 (16,36)	p=0,975
	CG + GG	34,19 (23,33)	

DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, P1NP: procolágeno tipo 1.

Al analizar las herramientas de valoración para riesgo de fractura y la distribución genotípica del polimorfismo rs1864183 del gen ATG10, se encontró que el valor de FRAX para fractura mayor fue más bajo en las pacientes con genotipo CC en comparación al genotipo CT; de igual manera se observó en las pacientes portadoras del alelo C. (Tabla 46)

Tabla 46. Distribución genotípica para el polimorfismo rs1864183 ATG10, y herramientas de valoración para riesgo de fractura.

Variables	Genotipo	Media (DE)	Comparaciones. P valor
TBS L2-L4	CC	1,180 (0,132)	p=0,226
	CT	1,209 (0,093)	
	TT	1,233 (0,082)	
	CC + CT	1,198 (0,109)	p=0,188
	TT	1,233 (0,082)	
	CC	1,180 (0,132)	p=0,134
	CT + TT	1,217 (0,090)	
FRAX Fx mayor	CC	14,327 (7,643)	CC vs CT p=0,038
	CT	18,850 (9,814)	CC vs TT p=0,184
	TT	17,835 (10,661)	CT vs TT p=0,667
	CC + CT	17,253 (9,317)	p=0,797
	TT	17,835 (10,661)	
	CC	14,327 (7,643)	p=0,039
	CT + TT	18,550 (10,012)	
FRAX Fx cadera	CC	5,780 (6,484)	p=0,220
	CT	8,453 (7,405)	
	TT	8,778 (8,415)	
	CC + CT	7,509 (7,170)	p=0,470
	TT	8,778 (8,415)	
	CC	5,780 (6,484)	p=0,083
	CT + TT	8,549 (7,662)	
FRAX más TBS FX mayor	CC	15,538 (7,792)	p=0,340
	CT	18,607 (9,119)	
	TT	18,624 (10,008)	
	CC + CT	17,483 (8,728)	p=0,612
	TT	18,624 (10,008)	
	CC	15,538 (7,792)	p=0,141
	CT + TT	18,612 (9,333)	
FRAX más TBS Fx cadera	CC	6,235 (6,465)	p=0,325
	CT	8,407 (7,245)	
	TT	9,219 (8,149)	
	CC + CT	7,611 (7,002)	p=0,376
	TT	9,219 (8,149)	
	CC	6,235 (6,465)	p=0,150
	CT + TT	8,665 (7,491)	

DE: desviación estándar, TBS: trabecular bone score

En el análisis entre las variables analíticas y el polimorfismo rs1864183 del gen ATG10 se encontró, que los niveles séricos de paratohormona (PTH) fueron más bajos en las pacientes con genotipo CC en comparación a las pacientes con genotipo CT y las portadoras del alelo C. (Tabla 47)

Tabla 47. Distribución genotípica para el polimorfismo rs1864183 ATG10 y variables analíticas.

Variables	Genotipo	Media (DE)	Comparaciones. P valor
PTH	CC	41,88 (19,33)	CC vs CT p=0,046
	CT	53,34 (24,23)	CC vs GG p=0,054
	TT	54,54 (30,37)	CG vs GG p=0,846
	CC + CT	48,37 (22,82)	p=0,284
	TT	54,54 (30,37)	
	CC	41,88 (19,33)	p=0,0,23
	CT + TT	53,78 (26,43)	
Vitamina D	CC	28,09 (20,35)	P=0,180
	CT	25,63 (12,16)	
	TT	31,90 (9,22)	
	CC + CT	26,61 (15,88)	p=0,092
	TT	31,90 (9,22)	
	CC	28,09 (20,35)	p=0,927
	CT + TT	27,82 (11,56)	
CROSSLAPS	CC	0,371 (0,268)	P=0,273
	CT	0,282 (0,240)	
	TT	0,280 (0,159)	
	CC + CT	0,312 (0,252)	p=0,584
	TT	0,280 (0,159)	
	CC	0,371 (0,268)	p=0,106
	CT + TT	0,282 (0,218)	
P1NP	CC	34,19 (25,74)	p=0,984
	CT	33,87 (23,16)	
	TT	35,02 (18,81)	
	CC + CT	33,98 (23,91)	p=0,863
	TT	35,02 (18,81)	
	CC	34,19 (25,74)	p=0,993
	CT + TT	34,23 (21,75)	

DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, P1NP: procolágeno tipo 1.

No se encontró diferencias estadísticas al analizar la distribución genotípica para el polimorfismo rs2241880 ATG16L1 y las herramientas de valoración de riesgo para fractura. (Tabla anexa 12)

En el análisis entre las variables analíticas y el polimorfismo rs2241880 ATG16L1, se encontró, que los niveles séricos de uno de los marcadores de remodelado óseo, Crosslaps, fueron más altos en las pacientes con genotipo TT en comparación a las pacientes con genotipo TC y CC; y en las pacientes portadoras del alelo T. (Tabla 48)

Tabla 48. Distribución genotípica para el polimorfismo rs2241880 ATG16L1, y variables analíticas.

Variables	Genotipo	Media (DE)	Comparaciones. P valor
PTH	TT	54,54 (32,03)	p=0,475
	TC	49,62 (21,90)	
	CC	45,13 (24,24)	
	TT +TC	51,00 (25,04)	p=0,356
	CC	45,13 (24,24)	
	TT	54,54 (32,03)	p=0,311
	TC + TT	48,53 (22,42)	
Vitamina D	TT	27,76 (14,82)	p=0,626
	TC	27,00 (11,55)	
	CC	30,26 (20,72)	
	TT +TC	27,21 (12,44)	p=0,345
	CC	30,26 (20,72)	
	TT	27,76 (14,82)	p=0,958
	TC + TT	27,94 (14,73)	
CROSSLAPS	TT	0,422 (0,251)	TT vs TC p=0,014
	TC	0,271 (0,217)	TT vs CC p=0,037
	CC	0,276 (0,231)	TC vs CC p=0,929
	TT +TC	0,314 (0,235)	p=0,494
	CC	0,276 (0,231)	
	TT	0,422 (0,251)	p=0,011
	TC + TT	0,273 (0,220)	
P1NP	TT	42,14 (26,19)	p=0,149
	TC	33,81 (20,39)	
	CC	28,43 (22,95)	
	TT +TC	36,40 (22,47)	p=0,153
	CC	28,43 (22,95)	
	TT	42,14 (26,19)	p=0,084
	TC + TT	31,90 (21,31)	

DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, P1NP: procolágeno tipo 1.

En el análisis del polimorfismo rs2245214 del gen ATG5, se encontró que los valores de FRAX de fractura de cadera, FRAX corregido con TBS para fractura mayor y FRAX corregido con TBS para fractura de cadera fueron mayor en pacientes portadoras del genotipo CC en comparación con las portadoras del genotipo CG. Las pacientes portadoras del alelo G presentaban valores menores de las variables descritas (Tabla 49). Sin embargo, en el análisis de las variables analíticas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla anexa 13)

Tabla 49. Distribución genotípica para el polimorfismo rs2245214 ATG5 y herramientas de valoración para riesgo de fractura.

Variables	Genotipo	Media (DE)	Comparaciones. P valor
TBS L2-L4	CC	1,199 (0,114)	p=0,826
	CG	1,210 (0,102)	
	GG	1,122 (0,077)	
	CC + CG	1,205 (0,107)	p=0,687
	GG	1,122 (0,077)	
	CC	1,199 (0,114)	p=0,572
	CG + GG	1,212 (0,097)	
FRAX Fx mayor	CC	19,296 (10,221)	p=0,110
	CG	15,408 (8,427)	
	GG	19,167 (11,186)	
	CC + CG	17,214 (9,458)	p=0,560
	GG	19,167 (11,186)	
	CC	19,296 (10,221)	p=0,073
	CG + GG	15,954 (8,873)	
FRAX Fx cadera	CC	9,428 (8,872)	CC vs CG p=0,032
	CG	6,215 (5,565)	CC vs GG p=0,748
	GG	8,567 (7,851)	CG vs GG p=0,376
	CC + CG	7,708 (7,428)	p=0,742
	GG	8,567 (7,851)	
	CC	9,428 (8,872)	p=0,046
	CG + GG	6,556 (5,931)	
FRAX más TBS FX mayor	CC	20,124 (9,533)	CC vs CG p=0,018
	CG	15,460 (7,920)	CC vs GG p=0,757
	GG	19,111 (9,793)	CG vs GG p=0,259
	CC + CG	17,595 (8,951)	p=0,634
	GG	19,111 (9,793)	
	CC	20,124 (9,533)	p=0,032
	CG + GG	16,069 (8,272)	
FRAX más TBS Fx cadera	CC	9,905 (8,442)	CC vs CG p=0,023
	CG	6,267 (5,814)	CC vs GG p=0,571
	GG	8,400 (7,106)	CG vs GG p=0,415
	CC + CG	7,933 (7,323)	p=0,856
	GG	8,400 (7,106)	
	CC	9,905 (8,442)	p=0,032
	CG + GG	6,622 (6,027)	

DE: desviación estándar, TBS: trabecular bone score.

5 DISCUSSION

5.1 DATOS EPIDEMIOLOGICOS Y CLINICOS.

Las fracturas vertebrales son las fracturas osteoporóticas más comunes, afectando a más del 40% de las mujeres de ≥ 80 años y en su gran mayoría, son el resultado de moderados o mínimos traumas o se producen espontáneamente (World Health Organization, 2003). La incidencia y prevalencia de los estudios epidemiológicos varía según la población y la definición de fractura vertebral. La prevalencia en mujeres europeas es más alta en Escandinavia (26%) y menor en Europa del Este (18%). Los datos de incidencia son más heterogéneos y escasos. Estudios realizados en pacientes hospitalizados y pacientes ambulatorios con fractura vertebral muestran una incidencia más alta en Corea del Sur, USA y Hong Kong y más bajas en UK (Ballane G., et al., 2017). La prevalencia en España se estima entre 17% y el 23% en mujeres mayores de 50 años y algo menos en varones de la misma edad (Cooper C., et al., 1993). En el estudio SOF (estudio de fracturas osteoporóticas) el 18% de las mujeres posmenopáusicas mayores de 65 años sufrieron una fractura vertebral incidente durante los 15 años de seguimiento. La tendencia de tener una fractura vertebral, además de aumentar con la edad, es más pronunciada en las mujeres (Cooper C., et al., 2011); la diferencia de la alta incidencia en mujeres depende de factores intrínsecos como la estructura y la fuerza del hueso, así como del descenso rápido de las hormonas sexuales en la menopausia, al igual que depende de factores extrínsecos como el mayor riesgo de caídas (Stevens J., 2005). En nuestro trabajo se incluyeron 124 mujeres con una o varias fracturas vertebrales y la edad media de las pacientes fue de 77,17 años ($DE \pm 8,6$).

El 60% de las fracturas vertebrales son asintomáticas por lo cual no son diagnosticadas y son un hallazgo casual ante una exploración radiológica de columna lumbar o dorsal (Gehlbach SH., et al., 2000). En nuestro estudio el 83,1% de las pacientes presentaron fractura vertebral sintomática, definida en nuestra serie como aquella referida en la historia clínica del paciente o autocomunicada retrospectivamente en la consulta médica del hospital como dolor agudo en la zona de la fractura cuando no había datos en la historia clínica. Presentar una fractura vertebral es un factor de riesgo para sufrir nuevas fracturas osteoporóticas tanto vertebrales como no vertebrales (Klotzbuecher C., et al., 2000; Johnell O., et al., 2004). El 33,9% de nuestra serie presentó también fracturas no vertebrales en cadera, antebrazo, tobillo y metatarso. Este elevado porcentaje de fracturas sintomáticas es lógico dado el sesgo del sistema de reclutamiento de la muestra puesto que las pacientes de nuestro estudio recibieron atención médica en servicios hospitalarios y no fueron seleccionadas de la población general. Estos resultados no invalidan el estudio ya que el objetivo no es valorar la fractura vertebral en la población general, sino analizar las características de los pacientes con fracturas vertebrales.

Para el análisis de los factores de riesgo para fractura osteoporótica de nuestra serie hemos considerado la propuesta de McCloskey (2013) que los clasifica en factores clínicos y en factores dependientes de la densidad mineral ósea (DMO) medida a través de la densitometría (McCloskey E. 2013). Entre los factores clínicos se incluyen los antecedentes familiares (AF) de fractura (madre o padre con fractura de cadera), la menopausia precoz, el IMC (índice de masa corporal) bajo, los hábitos tóxicos, déficit de vitamina D, uso crónico de corticoides, edad avanzada y antecedente personal (AP) de fractura, siendo los dos últimos considerados de alto riesgo (Sosa M. 2014). En

nuestro estudio encontramos que sólo 14 pacientes (11,3%) tenían AF de fractura, 8 pacientes (6,5%) se encontraban en rango de bajo peso según el IMC, una paciente era bebedora habitual, 11 pacientes eran fumadoras y la mayoría de las pacientes tenían tratamiento con vitamina D.

Un grupo de pacientes había recibido tratamiento con glucocorticoides. Dado que es un factor robusto para el desarrollo de fractura analizamos si en este grupo de paciente la DMO era más baja y si se relacionaba con fragilidad. En nuestro estudio 24 pacientes tenían este tratamiento para controlar patologías crónicas como Artritis Reumatoide, Polimialgia Reumática y Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. Nuestro estudio mostró que la toma de corticoides no influía sobre la DMO de las pacientes, tampoco tenía relación entre el grado de fragilidad. Otro parámetro analizado fue si la toma de corticoides podía influir sobre el nivel de degradación ósea medida por el TBS (trabecular bone score); tampoco encontramos que éstas variables estuvieran relacionadas. Estos hallazgos pueden llamar la atención por lo observado en otros estudios que comparan población con y sin tratamiento con corticoides, sin embargo, nuestro estudio indica que cuando se analiza una población con fracturas vertebrales, el factor tratamiento con glucocorticoides no influye en un descenso aún mayor de la DMO o del TBS, ya que como hemos mencionado son varios los factores de riesgo para fractura, y su asociación predisponen o aumentan este riesgo. Un dato curioso es que la mayor parte de las pacientes que tomaban corticoides (n=15) presentaban sólo fracturas vertebrales, y no fracturas no vertebrales. Una de las herramientas más utilizadas en la evaluación del riesgo de fractura es el FRAX, y como era de esperar los valores de éste tanto para fractura mayor como para fractura de cadera son más elevados dado que el uso de corticoides contribuye específicamente al aumento del índice (Kanis JA., et al., 2005). También el riesgo de fractura mayor medido por FRAX corregido con TBS fue superior entre los pacientes tratados con glucocorticoides.

La DMO baja es un factor de alto riesgo de fractura y en la actualidad es el patrón de oro para establecer el diagnóstico de osteoporosis (OP) a través de su medición por densitometría (Jódar Gimeno E., 2010; Schousboe JT., et al., 2013). Pero no todas las fracturas osteoporóticas o por fragilidad se producen en pacientes con osteoporosis densitométrica y un porcentaje importante ocurren en pacientes con osteopenia, que algunos autores prefieren llamar baja masa ósea. En nuestra cohorte hemos encontrado que existe osteoporosis densitométrica en columna lumbar, en cadera total o en cuello de fémur, en el 62,95% (n=78) de las pacientes. En el resto 37,1% (n=46) su densidad mineral ósea se encontraba en el rango de osteopenia. Sin embargo, el acúmulo de fracturas si se asoció claramente a una osteoporosis densitométrica (p=0,048), al igual que la presencia de fracturas no vertebrales en nuestros pacientes que tenían una menor densidad mineral ósea (p=0,010).

Otros factores de riesgo como la edad o el tiempo de menopausia no se asociaron a la presencia de fracturas. El IMC por debajo de 20 es un importante factor de riesgo de fractura. Todos nuestros pacientes tenían un IMC en sobrepeso, pero se encontró que aquellos con más fracturas tenían menor IMC, probablemente esto se debe a la obesidad sarcopénica, que se explica más detalladamente en los resultados de fragilidad.

En los últimos años se ha incorporado el análisis de la densidad mineral ósea mediante un software TBS, a partir de los datos densitométricos pero que se relaciona con las fracturas como un factor independiente y complementario de la DMO. Es una herramienta analítica que realiza mediciones de la densidad trabecular del hueso a partir de la escala de grises de las imágenes de la densitometría de la columna lumbar (Winzenrieth R., et al., 2013). Mide la calidad ósea a través de la valoración de la estructura trabecular; así, un valor de TBS bajo se asocia con peor estructura trabecular (estructura degradada), mientras que un valor alto de TBS se asocia con una mejor estructura trabecular (normales) (Hans D., et al., 2011). En nuestra cohorte 41 pacientes (33,1%) estaban en rango de degradado, 35 (28,2%) presentaban degradación parcial y 17 (13,7%) fueron normales. La mayoría de las pacientes presentaban valores bajos de TBS y en el análisis entre TBS y las variables densitométricas, se encontró una asociación significativa entre las pacientes con TBS degradado y DMO baja en columna lumbar. Estos datos parecen indicar que el deterioro óseo de los pacientes con fractura vertebral se refleja no solo en la DMO sino también en el TBS de la columna lumbar. La reducción de la DMO y del TBS está relacionada con el envejecimiento (Leslie WD, et al 2007). Varios estudios, entre los que son destacables los procedentes del análisis de la cohorte de Manitoba han demostrado que no solo la DMO sino también el TBS puede predecir el riesgo de fractura, la combinación de TBS y la DMO mejora la habilidad predictiva de fractura (Briot K., et al., 2013). Recientemente ha sido incorporado al cálculo del FRAX ya que puede aumentar su valor predictivo como herramienta de valoración de riesgo de fractura (Silva BC., et al., 2017). Sin embargo, en una población con fracturas vertebrales y no vertebrales como la nuestra no parece que el TBS tenga una habilidad predictiva adicional a la de la DMO.

El estudio de la relación de paratohormona (PTH), Crosslaps y propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1 (P1NP) en función de los niveles de la vitamina D mostró una relación estadísticamente significativa en el caso del Crosslaps ($p=0,001$) ($r = -0,297$). No hay literatura sobre la relación entre vitamina D y Crosslaps, sin embargo, la vitamina D es importante para el metabolismo óseo, participa en la diferenciación y proliferación celular, en la función muscular y el equilibrio; su déficit es endémico en la población anciana y está asociada con la pérdida de masa ósea y masa muscular, principalmente de la musculatura proximal, y por tanto se asocia a mayor riesgo de caídas y fracturas (Glerup H., et al., 2000; Wicherts IS., et al., 2007). Por otra parte, el Crosslaps es un marcador de remodelado óseo específicamente de resorción ósea. Nuestros datos muestran que una disminución sérica de vitamina D pudiera conllevar a un aumento sérico de Crosslaps, es decir, un aumento en la resorción ósea que podría asociarse a DMO baja y, por tanto, podría ser un factor de riesgo para fracturas.

5.2 ESTUDIO DE SÍNDROME DE FRAGILIDAD EN PACIENTES CON FRACTURA VERTEBRAL.

El síndrome de fragilidad es un síndrome estrechamente asociado al envejecimiento, que se caracteriza por una disminución de la reserva fisiológica y una capacidad reducida del organismo para enfrentar el estrés, aumentando la vulnerabilidad a eventos adversos como riesgo de caídas, hospitalización y mayor morbi-mortalidad (Ferrucci, et al., 2012). Puede surgir una cierta confusión entre fragilidad ósea y paciente frágil. La osteoporosis se asocia a fragilidad ósea y predisposición a las fracturas, mientras que el segundo concepto se asocia a un estado más relacionado con la situación biológica, sí que afecta de forma general a múltiples órganos y tejidos. La fragilidad se asocia a la edad avanzada ya que existe una declinación en la función de los sistemas fisiológicos (Ferrucci et al., 2012). Uno de los objetivos a explorar en nuestro estudio es conocer si existe relación entre los pacientes con fracturas osteoporóticas y síndrome por fragilidad.

Para la valoración de la fragilidad se utilizan dos modelos: el fenotípico propuesto por Fried et al., (2001) y el acumulativo propuesto por Rockwood y Mitnitski en 2011. El primero es el que hemos empleado en nuestro estudio y cuya descripción se señala en el apartado de Material y Métodos.

La mayor parte de los estudios sobre fragilidad y fracturas se han realizado en las fracturas de cadera de población anciana. Parece demostrado el hecho de que los pacientes que presentan fractura de cadera son pacientes frágiles según los criterios de fragilidad de Fried (Liu LK., et al., 2015). Utilizando estos criterios, en nuestra cohorte un 47,6% de pacientes (n=59) eran prefrágiles, 55 (44,3%) eran frágiles y 10 fueron categorizados como robustas o no frágiles (8,1%). Recientemente se ha publicado un meta-análisis que recogía 2.60 fracturas en un total de 103.783 ancianos, encontrando que las mujeres mayores de 65 años tienen un riesgo elevado de fractura osteoporótica (Chen KW, et al., 2017).

En nuestro estudio hemos encontrado, como era de esperar, que las pacientes robustas o no frágiles eran más jóvenes, menores de 70 años, que las pacientes prefrágiles y frágiles que eran mayores de 75 años. También encontramos diferencias estadísticamente significativas en la asociación entre IMC y fragilidad, así nuestras pacientes robustas presentaban un IMC mayor que las pacientes prefrágiles (29,91 (DE \pm 5,38) y 28,28 (DE \pm 5,38) respectivamente), estando en rango de sobrepeso. Sorprende que en nuestras pacientes con fracturas vertebrales exista este sobrepeso teniendo en cuenta que el riesgo de fractura está en relación inversa con el IMC. Sin embargo, en el síndrome de fragilidad se ha descrito una obesidad sarcopénica relacionada con el proceso de envejecimiento, en el que la pérdida de masa corporal magra no se acompaña de disminución de la masa grasa que incluso puede aumentar en particular a nivel intramuscular y visceral (Ding J., et al., 2007); de modo que la relación entre la reducción de la masa y la fuerza muscular relacionada con la edad suele ser independiente de la masa corporal (Prado CM., et al., 2008).

Como hemos mencionado en el síndrome de fragilidad existe una pérdida de masa, fuerza muscular y además de la DMO. Algunos estudios describen una asociación entre fragilidad y baja DMO tanto en la columna lumbar como en cadera (Sternberg S et al., 2014), incrementando el riesgo de caídas y por tanto de fracturas. No está claro si la OP y la sarcopenia conjuntamente influyen sobre la fragilidad o cada uno juega un papel individual (Borges y Menezes 2011; Cruz-Jentoft AJ. 2013). Sin

embargo, en el estudio de fracturas osteoporóticas (SOF) no se encontró asociación entre OP y fragilidad (Ensrud KE., et al., 2007). En nuestras pacientes ya fracturadas no parece existir una relación entre el grado de fragilidad y la DMO, incluso las pacientes robustas presentaban valores más bajos de DMO, lo que podría coincidir con el estudio de Gerdhem, en el que se describe que la fragilidad puede ser un factor de riesgo para fracturas independiente de la masa ósea; sin embargo, en este estudio se utilizó una definición no validada de fragilidad, ya que se definía como una impresión subjetiva del estado general de salud de individuo (Gerdhem P., et al., 2003). No hemos encontrado diferencias entre el número de fracturas vertebrales y fragilidad; tampoco hemos encontrado una relación entre el número de fracturas no vertebrales y del total de fracturas con el grado de fragilidad. Nuestros resultados probablemente están relacionados con las características de nuestra muestra con fracturas vertebrales, sin embargo, hubiéramos esperado que los pacientes con más fracturas fueran los más frágiles. En nuestro estudio no hemos recogido la variable caídas, nuestro estudio está más orientado a los factores de riesgo incluidos en el FRAX. Las caídas son un factor de riesgo aún no incorporado al FRAX, lo que representa una de sus limitaciones. En el paciente frágil el riesgo de caídas aumenta en 1.4-1.5 veces con la debilidad proximal de los miembros inferiores (Moreland JD. 2004; Lang T. 2010). La guía americana y británica de geriatría para la prevención de caídas describe que la debilidad muscular es el gran factor de riesgo para caídas con riesgo relativo de 4.4.

5.3 ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS DE GENES IMPLICADOS EN AUTOFAGIA: ATG2B, ATG5, ATG10 Y ATG16L1

La autofagia constituye un mecanismo a través del cual ciertos componentes del citoplasma celular son renovados con la formación de macromoléculas citoplasmáticas, que, a su vez, pueden generar componentes energéticos para solventar la demanda bioenergética en situaciones de estrés como la falta de aporte exógeno o aumento del requerimiento interno. Por tanto, se trata de un mecanismo predominantemente citoprotector más que autodestructivo, esencial en el mantenimiento de la homeostasis de las organelas celulares, principalmente de la mitocondria. Las mitocondrias que han perdido su potencial de membrana y son más propensas a liberar mediadores proapoptóticos tóxicos y radicales libres son eliminadas de forma selectiva a través de la autofagia (Rubinsztein, et al., 2011).

El envejecimiento celular está asociado a una reducción del potencial autofágico. Se piensa que la variación genética y los cambios moleculares relacionados con la edad como la senectud celular, la pérdida de las estructuras teloméricas, la disfunción mitocondrial, el incremento en la producción de radicales libres y las alteraciones en la capacidad reparativa del DNA son algunos de los factores relacionados con mayor posibilidad para explicar la fragilidad y/o el envejecimiento (Walston, et al., 2006).

El esqueleto se va deteriorando con el paso del tiempo, por lo que hay un aumento en la incidencia de fracturas no traumáticas particularmente después de los 60 años de edad. La pérdida de masa ósea se inicia desde la tercera década de la vida en ambos sexos (Khosla S. 2013). Los osteocitos representan la fase terminal de la diferenciación de los osteoblastos y están sometidos

constantemente a condiciones de estrés como la falta de nutrientes e hipoxia, las cuales son estímulos para el proceso de autofagia importante para la supervivencia de los mismos (Zahm, et al., 2011). Durante el proceso del envejecimiento existe una disminución de la autofagia que es muy importante a nivel de los osteocitos y de los osteoblastos para controlar la homeostasis ósea (Onal M., et al., 2013).

Nuestro trabajo se centró en el estudio de la distribución genotípica de los polimorfismos de los genes de autofagia ATG2B rs3759601, ATG10 rs1864183, ATG16L1 rs2241880 y ATG5 rs2245214 analizando si podrían tener algún papel en el desarrollo de fracturas vertebrales. Tres de los cuatro polimorfismos estudiados son cambios “missense” que implica cambios en la secuencia de aminoácidos de las respectivas proteínas (ATG2B rs3759601, ATG10 rs1864183 y ATG16L1 rs2241880), mientras que el polimorfismo ATG5 rs2245214 es intrónico.

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en el análisis de la distribución de los genotipos de los polimorfismos ATG2B rs3759601, ATG10 rs1864183, ATG16L1 rs2241880 y ATG5 rs2245214 en función del IMC, de si las pacientes con fractura vertebral además sufrieron fracturas no vertebrales, del número de fracturas vertebrales ni tampoco encontramos asociación con el grado de fragilidad de las pacientes ni de degradación según el TBS. Por lo cual nuestro estudio demostró que la autofagia no influye en la fragilidad de las pacientes; sin embargo, nuestra muestra fue pequeña siendo necesarios más estudios para corroborar el papel de la autofagia en el síndrome de fragilidad.

El gen ATG10 es una ligasa de tipo E2 que es fundamental para la formación del complejo Atg12-Atg5-Atg16L1 (Mizushima N. y Komatsu M. 2011; Rubinsztein, et al., 2012). Se ha evidenciado que la expresión de ATG10 está aumentada en enfermos con cáncer colorrectal, principalmente en aquellos tumores avanzados con invasión linfovascular y afectación metastásica a distancia (Jo YK, et al., 2012). La región cromosómica del gen ATG10 (5q14), se encuentra frecuentemente delecionada en cáncer de ovario, mama o gástrico (Oga A., et al., 2001; Ramus SJ., et al., 2003) y amplificada en neurofibrosarcoma y cáncer de páncreas (Shiraishi K., et al., 2001; Mantripragada KK., et al., 2009). El polimorfismo rs1864183 del gen ATG10 se ha asociado con la producción de IL8 en relación con infección tuberculosa (Songane M., et al., 2012). De igual manera un estudio describe que la presencia del alelo T del SNP del gen ATG10 rs1864183 actúa como un factor protector para el desarrollo de enfermedad ósea de Paget (Usategui-Martin R., et al., 2015).

En nuestro estudio del polimorfismo rs1864183 del gen ATG10, encontramos que el ser portador del alelo T y del genotipo CT se asocia con menor riesgo de presentar fractura vertebral. El FRAX es una herramienta de valoración de riesgo de fractura mayor y de cadera y que conjuntamente con el TBS podrían predecir el riesgo de fractura a 10 años (Leslie W., et al., 2013), cuando analizamos su asociación con el polimorfismo rs1864183 del gen ATG10 encontramos que el ser portador del alelo C y del genotipo CC se asocia con menor riesgo de fractura mayor. Estos datos sugieren que podría estar aumentado el mecanismo de la autofagia y ser factor protector dificultando la aparición de fracturas vertebrales.

Un tercio de los pacientes con hiperparatiroidismo primario tienen una pérdida relevante de DMO a partir de los 10 años de evolución, y uno de cada 5 desarrolla osteoporosis densitométrica en ese periodo, especialmente en el hueso cortical que, además, mantiene la tendencia a deteriorarse a más largo plazo (Gimeno EJ. 2014). En nuestro estudio encontramos que el ser portador del genotipo

CC y del alelo C se asocia a valores serológicos menores de PTH, lo que podría sugerir protección para el desarrollo de osteoporosis y por tanto de fracturas, sin embargo, se debe tener en cuenta que en el remodelado óseo están implicadas múltiples vías metabólicas.

El gen ATG16L1 es esencial para la formación del autofagosoma (Rioux JD., et al., 2007). El polimorfismo rs2241880 del gen ATG16L1 corresponde con la mutación T300A (Cheng JF., et al., 2010), la prevalencia de este SNP es relativamente frecuente en la población general, habiéndose descrito hasta en el 51.3% de los casos en algunos estudios. Un metaanálisis ha confirmado la asociación de dicho polimorfismo no solo con la Enfermedad de Crohn sino también con la Colitis Ulcerosa (Cheng JF., et al., 2010). Dos estudios recientes lo han relacionado con riesgo cardiovascular (Smolkova B, et al, 2015) y con la enfermedad de Paget (Usategui-Martin R., et al., 2015).

En nuestro trabajo no encontramos diferencias estadísticamente significativas al analizar el polimorfismo rs221880 del gen ATG16L1 con las variables clínicas de nuestras pacientes, sin embargo al analizar los marcadores de remodelado óseo, encontramos que los niveles de Crosslaps, marcador de resorción ósea esta aumentado en las pacientes con genotipo TT y alelo T, pudiendo sugerir que en estas pacientes el mecanismo de autofagia se encuentra disminuido por lo que la resorción ósea estaría aumentada.

Existen dos genes ATG2, el A y el B, que son esenciales para la formación del autofagosoma y de suma importancia para la regulación del tamaño y la distribución de los remanentes lipídicos (Velikkakath AK., et al., 2012)

Se ha demostrado que la presencia de SNPs en genes de autofagia ATG2B rs3759601 y ATG5 rs2245214 influyen en los efectos in vivo e in vitro de la vacuna BCG, bajo la estimulación de inductores bacterianos o fúngicos no relacionados, además se encontró correlación entre el SNP de ATG2B rs3759601 y el riesgo de progresión y recurrencia de cáncer de vejiga tras la instilación intravesical de BCG (Buffen K, et al., 2014). En un estudio de este polimorfismo y la enfermedad de Paget no se encontró asociación en el riesgo de desarrolla la enfermedad (Usategui-Martin R., et al., 2015).

En nuestro estudio del polimorfismo rs3759601 del gen ATG2B, encontramos que las pacientes portadoras del alelo G presentaban un valor menor en el FRAX corregido con TBS para fractura de cadera, lo que podría sugerir una disminución del riesgo de fractura, encontrándose el mecanismo de autofagia conservado, asociándose como factor protector para no desarrollar fracturas. Sin embargo, los niveles séricos de vitamina D fueron más bajos en las pacientes portadoras del alelo G, que podría sugerir ser un factor de riesgo para desarrollar fracturas, pero como se ha mencionado anteriormente no solo la vitamina D está implicada en el remodelado óseo por lo cual se debe tener en cuenta los otros factores de remodelado óseo y ampliar el estudio con un número mayor de población.

El complejo ATG5-ATG16L1-ATG12 es importante para determinar los sitios de síntesis del autofagosoma, regulando la unión de LC3 con ATG5-ATG12 (Pyo JO., et al., 2012; Rubinsztein DC., et al., 2012). Se ha observado en ratones que presentan la enfermedad de Paget un incremento de la expresión de ATG5, que pudiera indicar una disminución del mecanismo de autofagia en el curso de la enfermedad (Daroszezewska A., et al., 2011). Estudios en cáncer de próstata y de tiroides, han

demostrado un incremento de la expresión de ATG5 en el caso del carcinoma de próstata (Kim MS., et al., 2011) y una asociación con el polimorfismo rs2245214 en el carcinoma de tiroides (Plantinga TS., et al., 2014). Por otra parte, se ha descrito que la sobreexpresión de ATG5 en ratones potencia la autofagia, asociándose a patrones de envejecimiento saludable y a un incremento de la esperanza de vida, ya que existe una mejor tolerancia al estrés oxidativo y un aumento de la muerte celular inducida por el mismo (Pyo JO., et al., 2013). Por otro lado, estudios en humanos han demostrado una asociación entre ser portador del alelo G del polimorfismo rs2245214 de ATG5 y un incremento de riesgo para desarrollar enfermedad ósea de Paget (Usategui-Martin R., et al., 2015), demostrando una disminución en el mecanismo de autofagia.

En el estudio del polimorfismo rs2245214 del gen ATG5 en nuestra cohorte encontramos que las pacientes portadoras del alelo G presentan menor probabilidad de desarrollar OP. De igual manera en el FRAX para fractura de cadera, y el FRAX corregido con TBS para fractura mayor y fractura de cadera los valores son menores. Estos datos demuestran que el ser portador del genotipo GC y del alelo G se asocia a menor probabilidad de desarrollar fracturas.

6 CONCLUSIONES

1. La mayor parte de las pacientes de nuestra serie con fractura vertebral (>90%) pueden considerarse frágiles o prefrágiles según los criterios de Fried. No hay diferencias entre el grado de fragilidad y la edad o el índice de masa corporal. El grupo de pacientes robustas es escaso y predomina en las pacientes más jóvenes y las de mayor índice de masa corporal.
2. El número de fracturas totales, vertebrales y no vertebrales, no se relaciona con un mayor grado de fragilidad, lo que supone que el grado de fragilidad no es un buen predictor de la fractura en este tipo de pacientes. Deben existir otros factores más potentes de los que dependa el número de fracturas.
3. La masa ósea medida por T-score en columna lumbar, cuello femoral y total de la cadera es similar entre los tres grados de fragilidad. Sin embargo, existe una densidad mineral ósea absoluta mayor en la columna lumbar, pero no en la cadera, de las pacientes prefrágiles. Por el contrario, al considerar el Z-score, parámetro relacionado con la edad, está más elevado en el grupo de pacientes robustas. No hemos observado diferencias en la estructura ósea medida por el TBS de acuerdo al grado de fragilidad.
4. El grado de fragilidad de nuestros pacientes no parece influir ni en los marcadores de metabolismo óseo ni en otros parámetros hormonales involucrados en el metabolismo del hueso y el calcio, como PTH y vitamina D.
5. El grado de fragilidad tampoco parece estar relacionado con otros factores de riesgo de fractura como número de fracturas, índice de masa corporal, uso de glucocorticoides, índice FRAX o índice FRAX corregido por TBS.
6. Aunque nuestro trabajo refleja que ser portador del alelo T del polimorfismo ATG10 rs1864183 confiere un menor riesgo de sufrir fracturas vertebrales, no hemos observado que exista relación entre los polimorfismos de los genes implicados en la autofagia (ATG2B, ATG10, ATG16L1 y ATG5) estudiados en nuestras pacientes con fractura vertebral y su grado de fragilidad.

7. Sin embargo, sí que detectamos que algunos polimorfismos están asociados con algunos parámetros óseos, factores relacionados con el metabolismo óseo y factores de riesgo de fractura. Concretamente ser portador del alelo C del polimorfismo ATG10 rs1864183 se asocia a una mayor densidad mineral ósea en cadera y cuello de fémur, que puede estar influida por valores inferiores de PTH. Ser portador del alelo C del polimorfismo ATG5 rs2245214 confiere un mayor riesgo de fractura medido por FRAX y por FRAX modificado por TBS. Por el contrario, ser portador del alelo T del polimorfismo ATG16L1 rs2241880 se asocia a indicadores de mejor salud ósea, ya que se observa mayor masa ósea en cuello femoral, y a pesar de que hay aumento de la resorción ósea medida por marcadores serológicos, el número de fracturas es menor.

Tabla anexa 1. Hábitos tóxicos

Variables		Frecuencia	Porcentaje
ALCOHOL	NO	123	99,2%
	SI	1	0,8%
TABACO	NO	107	86,3%
	SI	11	8,9%
	Exfumador	6	4,8%

Tabla anexa 2. Hábitos tóxicos en pacientes con osteopenia y osteoporosis.

Variables		Osteopenia (%)	Osteoporosis (%)	p valor
Alcohol	SI	0 (0%)	1 (1,3%)	p=0,441
	NO	46 (100%)	77 (98,7%)	
Tabaco	SI	2 (4,3%)	9 (11,5%)	p=0,380
	NO	42 (91,3%)	65 (83,3%)	

Tabla anexa 3. Variables analíticas en pacientes con fracturas vertebrales aisladas y pacientes con fracturas vertebrales y no vertebrales.

Parámetros		Media (DE)	p valor
PTH	Fx V	52,38 (27,42)	p=0,142
	Fx V más otras Fx	44,54 (17,44)	
VITAMINA D	Fx V	26,41(15,53)	p=0,114
	Fx V más otras Fx	30,95 (12,42)	
CROSSLAPS	Fx V	0,33 (0,25)	p=0,106
	Fx V más otras Fx	0,24 (0,17)	
P1NP	Fx V	35,67 (23,47)	p=0,400
	Fx V más otras Fx	31,16 (21,25)	

DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, P1NP: propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1, Fx V: fracturas vertebrales.

Tabla anexa 4. TBS y variables analíticas.

Variables	TBS	Media (DE)	p valor
PTH	Normal	51,95 (23,25)	p=0,530
	Degradado parcial	54,63 (35,76)	
	Degradado	46,95 (20,11)	
Vitamina D	Normal	28,74 (10,34)	p=0,969
	Degradado parcial	27,61 (12,87)	
	Degradado	27,72 (19,86)	
Crosslaps	Normal	0,26 (0,25)	p=0,913
	Degradado parcial	0,30 (0,29)	
	Degradado	0,29 (0,20)	
P1NP	Normal	26,70 (22,30)	p=0,520
	Degradado parcial	30,77 (21,70)	
	Degradado	34,62 (19,79)	

TBS: trabecular bone score, DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, P1NP: propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1.

Tabla anexa 5. Fragilidad y variables analíticas.

Variables	Fragilidad	Media (DE)	p valor
PTH	Robusto	45,22 (16,56)	p=0,561
	Prefrágil	52,59 (22,29)	
	Frágil	47,05 (29,07)	
Vitamina D	Robusto	33,75 (11,90)	p=0,403
	Prefrágil	27,81 (12,40)	
	Frágil	26,89 (17,17)	
CROSSLAPS	Robusto	0,30 (0,30)	p=0,448
	Prefrágil	0,27 (0,19)	
	Frágil	0,33 (0,25)	
P1NP	Robusto	32,38 (25,80)	p=0,868
	Prefrágil	35,71 (26,81)	
	Frágil	33,16 (18,21)	

DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1.

Tabla anexa 6. Uso de corticoides en pacientes con osteopenia y osteoporosis.

Variables	CORTICOIDES		p valor
	SI	NO	
Osteopenia	11 (45,8%)	35 (35%)	p=0,324
Osteoporosis	13 (54,2%)	65 (65%)	

Tabla anexa 7. Fragilidad y uso de corticoides.

Fragilidad	CORTICOIDES		p valor
	SI	NO	
ROBUSTO	1 (4,2%)	9 (9%)	p=0,644
PREFRAGIL	13 (54,2%)	46 (46%)	
FRAGIL	10 (41,6%)	45 (45%)	

Tabla anexa 8. Corticoides y variables analíticas.

Variables	Corticoides	Media (DE)	p valor
PTH	SI	49,22 (20,044)	p=0,904
	NO	50,03 (25,857)	
VITAMINA D	SI	29,73 (12,207)	p=0,509
	NO	27,46 (15,248)	
CROSSLAPS	SI	0,300 (0,214)	p=0,943
	NO	0,305 (0,238)	
P1NP	SI	34,477 (22,001)	p=0,972
	NO	34,193 (22,986)	

DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, propéptido amino-terminal del procolágeno tipo 1.

Tabla anexa 9. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 e IMC.

SNP	Genotipo	Bajo Peso (%)	Normo Peso (%)	Sobre peso (%)	P valor
ATG2B rs3759601	CC	1 (12,5%)	7 (23,3%)	6 (7%)	p=0,120
	CG	5 (62,5%)	11 (36,7%)	47 (54,7%)	
	GG	2 (25 %)	12 (40%)	33 (38,4%)	
	CC + CG	6 (75%)	18 (60%)	53 (61,6%)	p=0,730
	GG	2 (25%)	12 (40%)	33 (38,4%)	
	CC	1 (12,5%)	7 (23,3%)	6 (7%)	p=0,051
	CG + GG	7 (87,5%)	23 (76,7%)	80 (93%)	
ATG10 rs1864183	CC	2 (25%)	7 (23,3%)	28 (32,6%)	p=0,744
	CT	3 (37,5%)	15 (50%)	40 (46,5%)	
	TT	3 (37,5%)	8 (26,7%)	18 (20,9%)	
	CC + CT	5 (62,5%)	22 (73,3%)	68 (79,1%)	p=0,507
	TT	3 (37,5%)	8 (26,7%)	18 (20,9%)	
	CC	2 (25%)	7 (23,3%)	28 (32,6%)	p=0,607
	CT + TT	6 (75%)	23 (76,7%)	58 (67,4%)	
ATG16L1 rs2241880	TT	3 (37,5%)	6 (20%)	18 (20,9%)	p=0,346
	TC	5 (62,5%)	19 (63,3%)	45 (52,3%)	
	CC	0 (0%)	5 (16,7%)	23 (26,7%)	
	TT + TC	8 (100%)	25 (83,3%)	63 (73,3%)	p=0,151
	CC	0 (0%)	5 (16,7%)	23 (26,7%)	
	TT	3 (37,5%)	6 (20%)	18 (20,9%)	p=0,534
	TC + CC	5 (62,5%)	24 (80%)	68 (79,1%)	
ATG5 rs2245214	CC	5 (62,5%)	12 (40%)	36 (41,9%)	p=0,775
	CG	3 (37,5 %)	15 (50%)	42 (48,8%)	
	GG	0 (0%)	3 (10%)	8 (9,3%)	
	CC + CG	8 (100%)	27 (90%)	78 (90,7%)	p=0,655
	GG	0 (0%)	3 (10%)	8 (9,3%)	
	CC	5 (62,5%)	12 (40%)	36 (41,9%)	p=0,498
	CG + GG	3 (37,5%)	18 (60%)	50 (58,1%)	

Tabla anexa 10. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 y fracturas vertebrales.

SNP	Genotipo	Fx Vertebral < 3 (%)	Fx Vertebral ≥ 3 (%)	p-valor
ATG2B rs3759601	CC	8 (11,4%)	6 (11,1%)	p=0,980
	CG	36 (51,4%)	27 (50%)	
	GG	26 (37,1 %)	21 (38,9%)	
	CC + CG	44 (62,9%)	33 (61,1%)	p=0,842
	GG	26 (37,1%)	21 (38,9%)	
	CC	8 (11,4%)	6 (11,1%)	p=0,956
	CG + GG	62 (88,6%)	48 (88,9%)	
ATG10 rs1864183	CC	21 (30%)	16 (29,6%)	p=0,953
	CT	32 (45,7%)	26 (48,1%)	
	TT	17 (24,3%)	12 (22,2%)	
	CC + CT	53 (75,7%)	42 (77,8%)	p=0,788
	TT	17 (24,3%)	12 (22,2%)	
	CC	21 (30%)	16 (29,6%)	p=0,964
	CT + TT	49 (70%)	38 (70,4%)	
ATG16L1 rs2241880	TT	19 (27,1%)	8 (14,8%)	p=0,120
	TC	39 (55,7%)	30 (55,6%)	
	CC	12 (17,1%)	16 (29,6%)	
	TT + TC	58 (82,9%)	38 (70,4%)	p=0,099
	CC	12 (17,1%)	16 (29,6%)	
	TT	19 (27,1%)	8 (14,8%)	p=0,099
	TC + CC	51 (72,9%)	46 (85,2%)	
ATG5 rs2245214	CC	31 (44,3%)	22 (40,7%)	p=0,371
	CG	35 (50 %)	25 (46,3%)	
	GG	4 (5,7%)	7 (13%)	
	CC + CG	66 (94,3%)	47 (87%)	p=0,159
	GG	4 (5,7%)	7 (13%)	
	CC	31 (44,3%)	22 (40,7%)	p=0,692
	CG + GG	39 (55,7%)	32 (59,3%)	

Fx: fractura

Tabla anexa 11. Distribución genotípica para los polimorfismos de los genes rs3759601 ATG2B, rs1864183 ATG10, rs2241880 ATG16L1 y rs2245214 ATG5 y el número total de fracturas no vertebrales.

Número de fracturas no vertebrales	SNP	Genotipo	Media (DE)	P valor
	ATG2B rs3759601	CC	1,50 (0,54)	p=0,960
		CG	1,45 (0,65)	
		GG	1,53 (1,12)	
		CC + CG	1,46 (0,68)	p=0,790
		GG	1,53 (1,12)	
		CC	1,50 (0,54)	p=0,970
		CG + GG	1,48 (0,83)	
	ATG10 rs1864183	CC	1,30 (0,48)	p=0,274
		CT	1,70 (1,03)	
		TT	1,30 (0,48)	
		CC + CT	1,56 (0,89)	p=0,334
		TT	1,30 (0,48)	
		CC	1,30 (0,48)	p=0,401
		CT + TT	1,54 (0,86)	
	ATG16L1 rs2241880	TT	1,25 (0,46)	p=0,263
		TC	1,66 (0,96)	
		CC	1,27 (0,46)	
		TT + TC	1,56 (0,87)	p=0,304
		CC	1,27 (0,46)	
		TT	1,25 (0,46)	p=0,355
		TC + CC	1,54 (0,85)	
	ATG5 rs2245214	CC	1,63 (0,95)	p=0,348
		CG	1,38 (0,60)	
		GG	1,00 (0,00)	
		CC + CG	1,52 (0,81)	p=0,277
		GG	1,00 (0,00)	
		CC	1,63 (0,95)	p=0,217
		CG + GG	1,33 (0,57)	

DE: desviación estándar

Tabla anexa 12. Distribución genotípica para el polimorfismo rs2241880 ATG16L1 y herramientas de valoración de riesgo para fractura.

Variables	Genotipo	Media (DE)	Comparaciones. P valor
TBS L2-L4	TT	1,215 (0,633)	p=0,846
	TC	1,207 (0,121)	
	CC	1,196 (0,092)	
	TT + TC	1,209 (0,107)	p=0,611
	CC	1,196 (0,092)	
	TT	1,215 (0,633)	p=0,683
	TC + CC	1,204 (0,113)	
FRAX Fx mayor	TT	15,825 (6,004)	p=0,298
	TC	17,026 (9,740)	
	CC	20,059 (11,871)	
	TT + TC	16,691 (8,839)	p=0,142
	CC	20,059 (11,871)	
	TT	15,825 (6,004)	p=0,370
	TC + CC	17,821 (10,352)	
FRAX Fx cadera	TT	6,013 (4,198)	p=0,197
	TC	7,690 (7,579)	
	CC	9,959 (9,302)	
	TT + TC	7,222 (6,823)	p=0,124
	CC	9,959 (9,302)	
	TT	6,013 (4,198)	p=0,188
	TC + CC	8,285 (8,069)	
FRAX más TBS FX mayor	TT	16,586 (5,746)	p=0,297
	TC	11,141 (9,050)	
	CC	20,495 (11,246)	
	TT + TC	16,979 (8,188)	p=0,122
	CC	20,495 (11,246)	
	TT	16,586 (5,746)	p=0,505
	TC + CC	18,086 (9,754)	
FRAX más TBS Fx cadera	TT	6,414 (4,177)	p=0,275
	TC	7,816 (7,529)	
	CC	10,035 (8,831)	
	TT + TC	7,407 (6,727)	p=0,153
	CC	10,035 (8,831)	
	TT	6,414 (4,177)	p=0,264
	TC + CC	8,441 (7,917)	

DE: desviación estándar, TBS: trabecular bone score.

Tabla anexa 13. Distribución genotípica para el polimorfismo rs2245214 ATG5 y variables analíticas.

Variables	Genotipo	Media (DE)	Comparaciones. P valor
PTH	CC	51,23 (24,71)	p=0,373
	CG	50,91 (26,30)	
	GG	39,37 (16,21)	
	CC + CG	51,05 (25,45)	p=0,160
	GG	39,37 (16,21)	
	CC	51,23 (24,71)	p=0,657
	CG + GG	48,98 (25,16)	
Vitamina D	CC	27,95 (12,58)	p=0,510
	CG	28,77 (16,41)	
	GG	23,13 (14,65)	
	CC + CG	28,39 (14,67)	p=0,260
	GG	23,13 (14,65)	
	CC	27,95 (12,58)	p=0,974
	CG + GG	27,86 (16,17)	
CROSSLAPS	CC	0,291 (0,235)	p=0,789
	CG	0,310 (0,246)	
	GG	0,348 (0,184)	
	CC + CG	0,300 (0,239)	p=0,561
	GG	0,348 (0,184)	
	CC	0,291 (0,235)	p=0,592
	CG + GG	0,317 (0,234)	
P1NP	CC	33,70 (22,88)	p=0,704
	CG	33,28 (19,58)	
	GG	40,26 (34,32)	
	CC + CG	33,49 (21,17)	p=0,403
	GG	40,26 (34,32)	
	CC	33,70 (22,88)	p=0,850
	CG + GG	34,65 (22,89)	

DE: desviación estándar, PTH: paratohormona, P1NP: procolágeno tipo 1.

8 BIBLIOGRAFÍA

Aadahl M, Beyer N, Linneberg A, Thuesen BH, Jørgensen T. Grip strength and lower limb extension power in 19-72-year-old Danish men and women: the Health 2006 study. *BMJ Open*. 2011 Jan 1;1(2):e000192.

Abrahamsen B, van Staa T, Ariely R, Olson M, Cooper C. Excess mortality following hip fracture: a systematic epidemiological review. *Osteoporos Int*. 2009 Oct;20(10):1633-50.

Aranceta Bartrina J, Arijia Val V, Maíz Aldalur E, Martínez de la Victoria Muñoz E, Ortega Anta RM, Pérez-Rodrigo C, Quiles Izquierdo J, Rodríguez Martín A, Román Viñas B, Salvador Castell G, Tur Marí JA, Varela Moreiras G, Serra Majem L. Dietary guidelines for the Spanish population (SENC, December 2016); the new graphic icon of healthy nutrition. *Nutr Hosp*. 2016 Dec 7;33(Suppl 8):1-48.

Artaza-Artabe I, Sáez-López P, Sánchez-Hernández N, Fernández-Gutierrez N, Malafarina V. The relationship between nutrition and frailty: Effects of protein intake, nutritional supplementation, vitamin D and exercise on muscle metabolism in the elderly. A systematic review. *Maturitas*. 2016 Apr 14.

Avila-Funes JA, Helmer C, Amieva H, Barberger-Gateau P, Le Goff M, Ritchie K, et al. Frailty among community-dwelling elderly people in France: the three-city study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63(10):1089–96.

Azagra R, Roca G, Encabo G, Prieto D, Aguyé A, Zwart M, et al. Prediction of absolute risk of fragility fracture at 10 years in a Spanish population: validation of the WHO FRAX™ tool in Spain. *BMC Musculoskelet Disord*. 2011;12:30.

Ballane G, Cauley JA, Luckey MM, El-Hajj Fuleihan G. Worldwide prevalence and incidence of osteoporotic vertebral fractures. *Osteoporos Int*. 2017 May;28(5):1531-1542.

Barzilay JI, Blaum C, Moore T, Xue QL, Hirsch CH, Walston JD, Fried LP.

Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, et al. Epidemiology of Sarcopenia among the Elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol*. 1998;147(8):755-63.

Bergman H., Beland F., Kanmananthan S., Humme1 S., Hogan D., and Wolfson C. Développement D'Un Cadre De Travail Pour Comprendre Et Étudier La Fragilité. *Gérontologie et Societé* 2004;109: 15-29.

Bernal Pérez M, Cortés Flores G, Giner Soria A, Orden Gonzalo I, Horno Pérez M, Benedicto Lorenzo I. ¿Ha mejorado la dotación de vitamina D3 en España? Actuales niveles en una muestra de la población. *Rev Esp Geriatria Gerontol*. enero de 2010;45(1):15-8.

Blake GM, Fogelman I. Role of dual-energy X-ray absorptiometry in the diagnosis and treatment of osteoporosis. *J Clin Densitom*. 2007;10:102-10

Bonjour JP, Benoit V, Payen F, Kraenzlin M. Consumption of yogurts fortified in vitamin D and calcium reduces serum parathyroid hormone and markers of bone resorption: a double-blind randomized controlled trial in institutionalized elderly women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Jul;98(7):2915-21.

- Borges L, Menezes R. Definition and markers of frailty: a systematic review of literature. *Clinical Gerontology* 2011 21;67-77.
- Borges L, Menezes R. Definition and markers of frailty: a systematic review of literature. *Clinical Gerontology* 2011 21;67-77.
- Borst SE. Interventions for sarcopenia and muscle weakness in older people. *Age Ageing*. 11 de enero de 2004;33(6):548-55
- Bortz WM. A conceptual framework of frailty: a review. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002;57(5):M283–8.
- Breban S, Briot K, Kolta S, et al. Identification of rheumatoid arthritis patients with vertebral fractures using bone mineral density and trabecular bone score. *J Clin Densitom*. 2012 Jul–Sep;15(3):260–6.
- Briot K, Paternotte S, Kolta S, Eastell R, Reid DM, Felsenberg D, et al. Added value of trabecular bone score to bone mineral density for prediction of osteoporotic fractures in postmenopausal women: The OPUS study. *Bone*. 2013;57(1):232-6.
- Brown I, Renwick R, Raphael D. Frailty: constructing a common meaning, definition, and conceptual framework. *Int J Rehabil Res*. 1995;18:93-102.
- Buchner DM, Wagner EH. Preventing frail health. *Clin Geriatr Med*. 1992;8(1):1–17.
- Buchner DM, Wagner EH. Preventing frail health. *Clin Geriatr Med*. 1992;8:1-17.
- Buffen K, Oosting M, Quintin J et al. Autophagy controls BCG-induced trained immunity and the response to intravesical BCG therapy for bladder cancer. *PLoS Pathog*. 2014;10:e1004485.
- Burgos P. Enfoque Terapeutico Global de la Sarcopenia. *Nutr. Hosp*. 2006 supp3. 51- 60.
- Busse B, Djonic D, Milovanovic P, Hahn M, Püschel K, Ritchie RO, Djuric M, Amling M. Decrease in the osteocyte lacunar density accompanied by hypermineralized lacunar occlusion reveals failure and delay of remodeling in aged human bone. *Aging Cell*. 2010 Dec;9(6):1065-75.
- Campbell JA, Buchner DM. Unstable disability and the fluctuations on frailty. *Age Ageing*. 1997;26:245-6.
- Carranza-Lira S, Rosas M, Murillo A, Martínez N, Santos J. Osteoporosis in postmenopausal women (Mexico City): 1. Risk factors. *Int J Fertil Womens Med* 2002;47:22-5.
- Cauley JA. Public health impact of osteoporosis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013;68(10):1243-51
- Chaves PH, Semba RD, Leng SX, Woodman RC, Ferrucci L, Guralnik JM, Fried LP. Impact of anemia and cardiovascular disease on frailty status of community-dwelling older women: the Women's Health and Aging Studies I and II. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005 Jun;60(6):729-35.
- Chen KW, Chang SF, Lin PL. Frailty as a Predictor of Future Fracture in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Worldviews Evid Based Nurs*. 2017 Apr 27.
- Chen X, Mao G, Leng SX. Frailty syndrome: an overview. *Clin Interv Aging*. 2014;9:433–41.

- Cheng JF, Ning YJ, Zhang W, Lu ZH, Lin L. T300A polymorphism of ATG16L1 and susceptibility to inflammatory bowel diseases: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2010;16:1258-1266
- Cheng K, Yang YH, Jaing SD, Jiang LS. Decreased activity of osteocyte autophagy with aging may contribute to the bone loss in senil population. *Histochem. Cell Biol*. 2014;142:285-295
- Cheung EY, Bow CH, Cheung CL, Soong C, Yeung S, Loong C, Kung A. Discriminative value of FRAX for fracture prediction in a cohort of Chinese postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2012 Mar;23(3):871-8.
- Chin A Paw MJM, Dekker JM, Feskens EJ, Schouten EG, Kromhout D. How to select a frail elderly population? A comparison of three working definitions. *J Clin Epidemiol*. 1999;52:1015-21.
- Cohen HJ, Harris T, Pieper CF. Coagulation and activation of inflammatory pathways in the development of functional decline and mortality in the elderly. *Am J Med*. 2003 Feb 15;114(3):180–7.
- Collard RM, Boter H, Schoevers RA, Oude Voshaar RC. Prevalence of frailty in community-dwelling older persons: a systematic review. *J Am Geriatr Soc*. 2012;60(8):1487–92.
- Compston J, Bowring C, Cooper A, Cooper C, Davies C, Francis R, et al. Diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and older men in the UK: National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) update 2013. *Maturitas*. 2013;75(4):392-6.
- Compston J. Clinical and therapeutic aspects of osteoporosis. *Eur J Radiol*. 2009;71:388-91.
- Conroy S. Defining frailty--the Holy Grail of geriatric medicine. *J Nutr Health Aging*. 2009 Apr;13(4):389.
- Cooper C, Atkinson EJ, Jacobsen SJ, O'Fallon WM, Melton LJ 3rd. Population-based study of survival after osteoporotic fractures. *Am J Epidemiol*. 1993 May 1;137(9):1001-5.
- Cooper C, Cole ZA, Holroyd CR, Earl SC, Harvey NC, Dennison EM, et al. IOF CSA Working Group on Fracture Epidemiology. Secular trends in the incidence of hip and other osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2011;22(5):1277-88.
- Cooper C, Dere W, Evans W, Kanis JA, Rizzoli R, Sayer AA, et al. Frailty and sarcopenia: definitions and outcome parameters. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos atl Osteoporos Found USA*. 2012;23(7):1839–48.
- Cooper C, O'Neill T, Silman A on behalf of the European Vertebral Osteoporosis Study Group (EVOS) The Epidemiology of vertebral fractures. *Bone*. 1993;14:589-97.
- Cormier C, Lamy O, Poriau S. TBS in routine clinical practice: proposals of use [Internet]. Plan-les-Outes, Switzerland: Medimaps Group; 2012; Available from:<http://www.medimapsgroup.com/upload/MEDIMAPSUK-WEB.pdf>.
- Crepaldi G, Maggi S. Sarcopenia and osteoporosis: A hazardous duet. *J Endocrinol Invest*. 2005;28(10 Suppl):66-8.

Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age and Ageing*. 2010;39(4):412-423.

Cruz-Jentoft AJ. Perspective: Protein and exercise for frailty and sarcopenia: still learning. *J Am Med Dir Assoc*. 2013;14:69-71.

Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner W, Cauley J, Ensrud K, Genant HK, Palermo L, Scott J, Vogt TM. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Lancet*. 1993 Jan9;341(8837):72-5.

Daroszewska A, van 't Hof RJ, Rojas JA, Layfield R, Landao-Basonga E, Rose L, Rose K, Ralston SH. A point mutation in the ubiquitin-associated domain of SQSMT1 is sufficient to cause a Paget's disease-like disorder in mice. *Hum Mol Genet*. 2011 Jul 15;20(14):2734-44.

Dawson-Hughes B. Serum 25-hydroxyvitamin D and functional outcomes in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 2008 Aug;88(2):537S-540S.

De Laet C, Kanis JA, Odén A, Johanson H, Johnell O, Delmas P, Eisman JA, Kroger H, Fujiwara S, Garnero P, McCloskey EV, Mellstrom D, Melton LJ 3rd, Meunier PJ, Pols HA, Reeve J, Silman A, Tenenhouse A. Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int*. 2005 Nov;16(11):1330-8.

De Liefde II, van der Klift M, de Laet CE, et al. Bone mineral density and fracture risk in type-2 diabetes mellitus: the Rotterdam Study. *Osteoporos Int*. 2005 Dec;16(12):1713-20.

Desarrollo De Criterios, Indicadores De Complejidad Y Estrategias De Manejo En Fragilidad de Carlos Gil, Ana María 978-84-96990-37-1 [Internet]. [cited 2015 Oct 2]. Available from: <http://www.todostuslibros.com/libros/desarrollo-de-criterios-indicadores-de-complejidad-y-estrategias-de-manejo-en-fragilidad-978-84-96990-37-1>

DeSelm CJ, Miller BC, Zou W, Beatty WL, van Meel E, Takahata Y, Klumperman J, Tooze SA, teitelbaum SL, Virgin HW. Autophagy prteins regulate the secretory component of osteoclastic bone resorption. *Dev. Cell* 2011;21, 966-74.

Di Gregorio S, Del Rio L, Rodriguez-Tolra J, Bonel E, García M, Winzenrieth R. Comparison between different bone treatments on areal bone mineral density (aBMD) and bone microarchitectural texture as assessed by the trabecular bone score (TBS). *Bone*. 2015; 75:138-43.

Didier H, Del Río L, Camargos B, Mascarenhas MR, Tamayo JA, Gomez C. Clinical importance of the trabecular bone score obtained from spine dual-energy x-ray absorptiometry. *Salud(i)Ciencia* 2015;21:129-39.

Ding J, Kritchevsky SB, Newman AB et al. Effects of birth cohort and age on body composition in a sample of community-based elderly. *Am J Clin Nutr* 2007;85:405-10

Donaldson MG, Palermo L, Schousboe JT, Ensrud KE, Hochberg MC, Cummings SR. FRAX and risk of vertebral fractures: the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res*. 2009;24:1793-9.

Dreyer HC, Volpi E. Role of protein and amino acids in the pathophysiology and treatment of sarcopenia. *J Am Coll Nutr.* 2005 Apr;24(2):140S-145S

El estado de la población mayor en España, 2017 [Internet]. Blog Envejecimiento [en-red]. 2016 [citado 23 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://envejecimiento.csic.es/documentos/documentos/enred-indicadoresbasicos17.pdf>.

Eller-Vainicher C, Morelli V, Olivieri FM, et al. Bone quality, as measured by trabecular bone score in patients with adrenal incidentalomas with and without subclinical hypercortisolism. *J Bone Miner Res.* 2012 Oct;27(10):2223–30.

Ensrud KE, Ewing SK, Cawthon PM, Fink HA, Taylor BC, Cauley JA, Dam TT, Marshall LM, Orwoll ES, Cummings SR; Osteoporotic Fractures in Men Research Group. A comparison of frailty indexes for the prediction of falls, disability, fractures, and mortality in older men. *J Am Geriatr Soc.* 2009 Mar;57(3):492-8

Ensrud KE, Ewing SK, Taylor BC, Fink HA, Cawthon PM, Stone KL, et al. Comparison of 2 frailty indexes for prediction of falls, disability, fractures, and death in older women. *Arch Intern Med.* 2008;168(4):382–9.

Ensrud KE, Ewing SK, Taylor BC, Fink HA, Cawthon PM, Stone KL, Hillier TA, Cauley JA, Hochberg MC, Rodondi N, Tracy JK, Cummings SR. Comparison of 2 frailty indexes for prediction of falls, disability, fractures, and death in older women. *Arch Intern Med.* 2008 Feb 25;168(4):382-9.

Ensrud KE, Ewing SK, Taylor BC, Fink HA, Stone KL, Cauley JA, Tracy JK, Hochberg MC, Rodondi N, Cawthon PM; Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Frailty and risk of falls, fracture, and mortality in older women: the study of osteoporotic fractures. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2007 Jul;62(7):744-51.

Ershler WB, Keller ET. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. *Annu Rev Med.* 2000;51:245–70.

Eskelinen, E.-L. & Saftig, P. Autophagy: A lysosomal degradation pathway with a central role in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1793, 664–673 (2009).

Evans WJ. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. *Am J Clin Nutr.* 1 de abril de 2010;91(4):1123S - 1127S

Ferrar L, Jiang G, Adams J, Eastell R. Identification of vertebral fractures: an update. *Osteoporos Int.* 2005 Jul;16(7):717-28.

Ferrucci L, Cavazzini C, Corsi A, Bartali B, Russo CR, Lauretani F, et al. Biomarkers of frailty in older persons. *J Endocrinol Invest.* 2002;25(10 Suppl):10–5.

Ferrucci L, Guralnik JM, Studenski S, Fried LP, Cutler GB Jr, Walston JD. Designing randomized, controlled trials aimed at preventing or delaying functional decline and disability in frail, older persons: a consensus report. *J Am Geriatr Soc.* 2004;52:625-34

Ferrucci L, Stephanie S. Clinical Problems of Ageing: Harrison's Principles of Internal Medicine. Longo D L, Fauci A S, Kasper D L et al (eds). Mc Graw Hill Medical. 18th Ed 2012, New York. Page: 570-85.

- Fiatarone MA, O'Neill EF, Ryan ND, Clements KM, Solares GR, Nelson ME, et al. Exercise Training and Nutritional Supplementation for Physical Frailty in Very Elderly People. *N Engl J Med*. 23 de junio de 1994;330(25):1769-75.
- Fink HA, Milavetz DL, Palermo L, Nevitt MC, Cauley JA, Genant HK, Black DM, Ensrud KE; Fracture Intervention Trial Research Group. What proportion of incident radiographic vertebral deformities is clinically diagnosed and vice versa? *J Bone Miner Res*. 2005 Jul;20(7):1216-22
- Fleg JL, Lakatta EG. Role of muscle loss in the age-associated reduction in VO2 max. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. septiembre de 1988;65(3):1147-51.
- Frenkel B, White W, Tuckermann J. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Adv Exp Med Biol*. 2015;872:179-215.
- Fried LP, Ferrucci L, Darer J, Williamson JD, Anderson G. Untangling the Concepts of Disability, Frailty, and Comorbidity: Implications for Improved Targeting and Care. *J Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci*. 2004;59:255-63.
- Fried LP, Hadley EC, Walston JD, et al. From bedside to bench: research agenda for frailty. *Sci Aging Knowledge Environ*. 2005(31):pe24
- Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001;56(3):M146–56.
- Frisoli A Jr, Chaves PH, Ingham SJ, Fried LP. Severe osteopenia and osteoporosis, sarcopenia, and frailty status in community-dwelling older women: results from the Women's Health and Aging Study (WHAS) II. *Bone*. 2011 Apr;48(4):952-7.
- Frontera WR, Hughes VA, Fielding RA, Fiatarone MA, Evans WJ, Roubenoff R. Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. *J Appl Physiol*. 2000;88(4):1321-6
- function and lean body mass in healthy exercising elderly. *Mech Ageing Dev*. 2003
- Garcia-Garcia FJ, Gutierrez Avila G, Alfaro-Acha A, Amor Andres MS, De Los Angeles De La Torre Lanza M, Escribano Aparicio MV, et al. The prevalence of frailty syndrome in an older population from Spain. The Toledo Study for Healthy Aging. *J Nutr Health Aging*. 2011;15(10):852–6.
- Gass M, Dawson-Hughes B. Preventing osteoporosis-related fractures: an overview. *Am J Med*. 2006 ;119 4 Suppl 1:S3-11.
- Gehlbach SH, Bigelow C, Heimisdottir M, May S, Walker M, Kirkwood JR. Recognition of vertebral fracture in a clinical setting. *Osteoporos Int*. 2000;11:577-82
- Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res*. 1993 Sep;8(9):1137-48.
- Gerdhem P, Ringsberg KA, Magnusson H, Obrant KJ, Akesson K. Bone mass cannot be predicted by estimations of frailty in elderly ambulatory women. *Gerontology*. 2003 May-Jun;49(3):168-72.
- Gill TM, Gahbauer EA, Allore HG, Han L. Transitions between frailty states among community-living older persons. *Arch Intern Med*. 2006 Feb 27;166(4):418-23.

- Gillick M. Pinning down frailty. *Journals of Gerontology Series A-Biological Sciences & Medical Sciences* 2001, 56A(3):134-35.
- Glerup H, Mikkelsen K, Poulsen L, Hass E, Overbeck S, Andersen H, et al. Hypovitaminosis D myopathy without biochemical signs of osteomalacic bone involvement. *Calcif Tissue Int.* junio de 2000;66(6):419-24.
- Gobbens RJ, van Assen MA, Luijkx KG, Schols JM. The predictive validity of the Tilburg Frailty Indicator: disability, health care utilization, and quality of life in a population at risk. *Gerontologist.* 2012 Oct;52(5):619-31
- Gobbens RJ, van Assen MA, Luijkx KG, Wijnen-Sponselee MT, Schols JM. The Tilburg Frailty Indicator: psychometric properties. *J Am Med Dir Assoc.* 2010 Jun;11(5):344-55.
- González López-Valcárcel B, Sosa Henríquez M. Estimación del riesgo de fractura osteoporótica a los 10 años para la población española. *Med Clin.* 2013;140(3):104-9.
- González Macías J, Olmos Martínez JM. Fisiopatología de la osteoporosis y mecanismo de acción de la PTH. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2010;2:5-17.
- González-Macías J, Marín F, Vila J, Díez-Pérez A, Abizanda M, Álvarez R, et al; Investigadores del Proyecto ECOSAP. Factores de riesgo de fractura osteoporótica en una serie de 5.195 mujeres mayores de 65 años. *Med Clin (Barc).* 2004;123:85-9
- González-Macías J, Marin F, Vila J, Díez-Pérez A. Probability of fractures predicted by FRAX® and observed incidence in the Spanish ECOSAP Study cohort. *Bone.* 2012;50(1):373-7.
- Häkkinen K, Pastinen UM, Karsikas R, Linnamo V. Neuromuscular performance in voluntary bilateral and unilateral contraction and during electrical stimulation in men at different ages. *Eur J Appl Physiol.* 1995;70(6):518-27.
- Hamerman D. Toward an understanding of frailty. *Ann Intern Med.* 1999 Jun 1;130(11):945-50.
- Hans D, Barthe N, Boutroy S, Pothuaud L, Winzenrieth R, Krieg MA. Correlations between trabecular bone score, measured using anteroposterior dual-energy X-ray absorptiometry acquisition, and 3-dimensional parameters of bone microarchitecture: an experimental study on human cadaver vertebrae. *J Clin Densitom.* 2011; 14:302–12
- Hans D, Goertzen AL, Krieg M-A, Leslie WD. Bone Micro-Architecture Assessed by TBS Predicts Osteoporotic Fractures Independent of Bone Density: The Manitoba Study. *J Bone Miner Res.* 2011; 26:2762–9.
- Hauck, S. 1. and A. Bartke.. "Free Radical Defenses in the Liver and Kidney of Human Growth Hormone Transgenic Mice: Possible Mechanisms of Early Mortality." *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001; 56(4):8 153-62.
- Health Study. *Arch Intern Med.* 2007 Apr 9;167(7):635-41.
- Hippisley-Cox J, Coupland C. Predicting risk of osteoporotic fracture in men and women in England and Wales: prospective derivation and validation of QFractureScores. *BMJ.* 2009;339:b4229.

Hughes VA, Frontera WR, Wood M, et al. Longitudinal muscle strength changes in older adults: influence of muscle mass, physical activity, and health. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001;56:B209-17.

Insulin resistance and inflammation as precursors of frailty: the Cardiovascular

International Society for Clinical Densitometry. 2013 ISCD Official Positions – Adult. Disponible en: <http://www.iscd.org/official-positions/2013-iscd-official-positions-adult/>. Citado 30 de junio de 2016.

Izumotani K, Hagiwara S, Izumotani T, Miki T, Morii H, Nishizawa Y. Risk factors for osteoporosis in men. *J Bone Miner Metab*. 2003;21: 86-90.

Janssen HCJP, Samson MM, Verhaar HJJ. Vitamin D deficiency, muscle function, and falls in elderly people. *Am J Clin Nutr*. abril de 2002;75(4):611-5.

Jilka RL, O'Brien CA. The Role of Osteocytes in Age-Related Bone Loss. *Curr Osteoporos Rep*. 2016 Feb;14(1):16-25.

Jo YK, Kim SC, Park IJ, Park SJ, Jin DH, Hong SW, Cho DH, Kim JC. Increased expression of ATG10 in colorectal cancer is associated with lymphovascular invasion and lymph node metastasis. *PLoS One*. 2012;7(12):e52705.

Jódar Gimeno E. Identificación del paciente con alto riesgo de fractura. *Rev Osteoporos Metab Miner*. 2010;2Supl3: S12-21.

Jódar Gimeno E. Osteoporosis secundaria. *Medicine*. 2014;11(60):3535-44

Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2005;16Suppl2:S3-S7

Johnell O, Kanis JA, Odén A, Sernbo I, Redlund-Johnell I, Pettersson C, De Laet C, Jönsson B. Fracture risk following an osteoporotic fracture. *Osteoporos Int*. 2004 Mar;15(3):175-9.

Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2006;17:1726-33

Jürschik Giménez P, Escobar Bravo MÁ, Nuin Orrio C, Botigué Satorra T. [Frailty criteria in the elderly: a pilot study]. *Atencion Primaria Soc Esp Med Fam Comunitaria*. 2011;43(4):190–6.

Kado DM, Duong T, Stone KL, Ensrud KE, Nevitt MC, Greendale GA, Cummings SR. Incident vertebral fractures and mortality in older women: a prospective study. *Osteoporos Int*. 2003 Jul;14(7):589-94.

Kaiser, F. E., A. 1. Silver, and J. E. Morley. "The Effect of Recombinant Human Growth Hormone on Malnourished Older Individuals." *J Am Geriatr Soc* 1991;39(3):235-40.

Kanis JA, Borgstrom F, de Laet C, Johansson H, Johnell O, Jonsson B, et al. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int*. 2005;16:581-9.

Kanis JA, Johansson H, Oden A, et al. A meta-analysis of prior corticosteroid use and fracture risk. *J Bone Miner Res*. 2004 Jun;19(6): 893–9.

- Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int.* 2008;19:385-97.
- Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY, on behalf of the Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) and the Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2013;24(1):23-57.
- Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1994 Aug;9(8):1137-41.
- Kaushik S, Cuervo AM. Chaperone-mediated autophagy: a unique way to enter the lysosome world. *Trends Cell Biol.* 22, 407-17. 2012
- Kendler DL, Bauer DC, Davison KS, Dian L, Hanley DA, Harris ST, McClung MR, Miller PD, Schousboe JT, Yuen CK, Lewiecki EM. Vertebral Fractures: Clinical Importance and Management. *Am J Med.* 2016 Feb;129(2):221.e1-10.
- Kent-Braun JA, Ng AV, Young K. Skeletal muscle contractile and noncontractile components in young and older women and men. *J Appl Physiol.* 1 de febrero de 2000;88(2):662-8
- Khosla S. Pathogenesis of age-related bone loss in humans. *J Gerontol Ser A boil Med Sci.* 2013;68,1226-35.
- Kiebzak GM, Beinart GA, Perser K, Ambrose CG, Siff SJ, Heggeness MH. Undertreatment of osteoporosis in men with hip fracture. *Arch Intern Med.* 2002 Oct 28;162(19):2217-22.
- Kim MS, Song SY, Lee JY, Yoo NJ, Lee SH. Expressional and mutational analyses of ATG5 gene in prostate cancers. *APMIS.* 2011;119:802-807.
- Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA 3rd, Berger M. Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res.* 2000 Apr;15(4):721-39.
- Kojima G. Frailty as a predictor of fractures among community-dwelling older people: A systematic review and meta-analysis. *Bone.* 2016 Jun 15;90:116-22.
- Korolchuk VI, Mansilla A, Menzies FM, Rubinsztein DC. Autophagy inhibition compromises degradation of ubiquitin-proteasome pathway substrates. *Mol Cell.* 2009 Feb 27;33(4):517-27.
- Krieg MA, Ury-Rozier B, Hans D, Leslie WD. Effects of anti-resorptive agents on trabecular bone score (TBS) in older women. *Osteoporos Int.* 2013; 24:1073–8.
- Kular J, Tickner J, Chim SM, Xu J. An overview of the regulation of bone remodelling at the cellular level. *Clin Biochem.* 2012;45(12):863-73.
- Lamy O, Krieg M, Stoll D, et al. What is the performance in vertebral fracture discrimination by bone mineral density (BMD), microarchitecture estimation (TBS), and FRAX in stand-alone, combined or adjusted approaches: the Osteo Laus Study. Presented at: ECTS 2013; May 18-21, 2013; Lisbon, Portugal.

- Lana A, Rodriguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E. Dairy Consumption and Risk of Frailty in Older Adults: A Prospective Cohort Study. *J Am Geriatr Soc*. 2015 Sep;63(9):1852-60.
- Lang T, Cauley JA, Tylavsky F, Bauer D, Cummings S, Harris TB; Health ABC Study. Computed tomographic measurements of thigh muscle cross-sectional area and attenuation coefficient predict hip fracture: the health, aging, and body composition study. *J Bone Miner Res*. 2010;25:513-9
- Lang T, Streeper T, Cawthon P, Baldwin K, Taaffe DR, Harris TB. Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention, and assessment. *Osteoporos Int*. 2010;21:543 -59.
- Leng S, Chaves P, Koenig K, Walston J. Serum interleukin-6 and hemoglobin as physiological correlates in the geriatric syndrome of frailty: a pilot study. *J Am Geriatr Soc*. 2002 Jul;50(7):1268–71.
- Leng SX, Cappola AR, Andersen RE, et al. Serum levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S), and their relationships with serum interleukin-6, in the geriatric syndrome of frailty. *Aging Clin Exp Res*. 2004;16:153–157. 50.
- Leng SX, Hung W, Cappola AR, Yu Q, Xue QL, Fried LP. White blood cell counts, insulin-like growth factor-1 levels, and frailty in community-dwelling older women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009;64:499–502. 51.
- Leng SX, Li H, Xue QL, et al. Association of detectable cytomegalovirus (CMV) DNA in monocytes rather than positive CMV IgG serology with elevated neopterin levels in community-dwelling older adults. *Exp Gerontol*. 2011;46:679–684.
- Leng SX, Qu T, Semba RD, et al. Relationship between cytomegalovirus (CMV) IgG serology, detectable CMV DNA in peripheral monocytes, and CMV pp65(495-503)-specific CD8(+) T cells in older adults. *Age (Dordr)*. 2011;33:607–614.
- Leng SX, Tian X, Matteini A, Li H, Hughes J, Jain A, et al. IL-6-independent association of elevated serum neopterin levels with prevalent frailty in community-dwelling older adults. *Age Ageing*. 2011 Jul;40(4):475–81.
- Leng SX, Xue QL, Tian J, Huang Y, Yeh SH, Fried LP. Associations of neutrophil and monocyte counts with frailty in community-dwelling disabled older women: results from the Women's Health and Aging Studies I. *Exp Gerontol*. 2009 Aug;44(8):511-6.
- Leng SX, Xue QL, Tian J, Walston JD, Fried LP. Inflammation and frailty in older women. *J Am Geriatr Soc*. 2007 Jun;55(6):864-71.
- Leslie W, Kanis J, Lamy O, et al. Adjustment of FRAX probability according to lumbar spine trabecular bone score (TBS):TheManitoba BMD Cohort. *J Clin Densitom*. 2013;16(Suppl):267–8
- Leslie WD, Anderson WA, Metge CJ, Manness LJ. Clinical risk factors for fracture in postmenopausal Canadian women: a population-based prevalence study. *Bone*. 2007.
- Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 132, 27-42, 2008.

Lewis CE, Ewing SK, Taylor BC, Shikany JM, Fink HA, Ensrud KE, Barrett-Connor E, Cummings SR, Orwoll E; Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Research Group. Predictors of non-spine fracture in elderly men: the MrOS study. *J Bone Miner Res.* 2007 Feb;22(2):211-9.

Li WW, Li J, Bao JK. Microautophagy: lesser-known self-eating. *Cell Mol Life Sci.* 69,11,25-36. 2012

Lipsitz LA. Dynamics of stability: The physiologic basis of functional health and frailty. *J Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci.* 2002;57:115-25

Liu F, Fang F, Yuan H, Yang D, Chen Y, Williams L, Goldstein SA, Krebsbach PH, Guan JL. Suppression of autophagy by FIP200 deletion leads to osteopenia in mice through the inhibition of osteoblast terminal differentiation. *J Bone Miner Res.* 2013 Nov;28(11):2414-30.

Liu LK, Lee WJ, Chen LY, Hwang AC, Lin MH, Peng LN, Chen LK. Association between Frailty, Osteoporosis, Falls and Hip Fractures among Community-Dwelling People Aged 50 Years and Older in Taiwan: Results from I-Lan Longitudinal Aging Study. *PLoS One.* 2015 Sep 8;10(9).

Liu LK, Lee WJ, Liu CL, et al. Age-related skeletal muscle mass loss and physical performance in Taiwan: implications to diagnostic strategy of sarcopenia in Asia. *Geriatr Gerontol Int.* 2013;13: 964–971. 57.

López-Otin C, Serranco M, Partridge L, Blasco MA, Kroemer G. Authoritative review of current concepts of molecular causes of age-related changes in cell function and behavior.

Manolagas SC, Parfitt AM. What old means to bone. *Trends Endocrinol Metab.* 2010;21:273-82

Mantripragada KK, Díaz de ST, Patridge C , Menzel U , Andersson R, Chuzhanova N, Kluwe L, Guha A , Mautner V , Dumanski JP , Upadhyaya M. Genome-wide high-resolution analysis of DNA copy number alterations in NF1-associated malignant peripheral nerve sheath tumors using 32K BAC array. *Genes Chromosomes Cancer.* 2009;48:897-907

Mar;124(3):301-9

McCloskey E. Assessing fracture risk in patients with osteoporosis. *Practitioner.* 2013;257(1765):19-21, 2-3

McCloskey EV, Spector TD, Eyres KS, Fern ED, O'Rourke N, Vasikaran S, Kanis JA. The assessment of vertebral deformity: a method for use in population studies and clinical trials. *Osteoporos Int.* 1993 May;3(3):138-47.

Michelson E, Blaum C, Semba RD, Xue QL, Ricks MO, Fried LP. Vitamin and carotenoid status in older women: associations with the frailty syndrome. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006;61: 600–607. 52.

Milovanovic P, Zimmermann EA, Hahn M, Djonic D, Püschel K, Djuric M, Amling M, Busse B. Osteocytic canalicular networks: morphological implications for altered mechanosensitivity. *ACS Nano.* 2013 Sep 24;7(9):7542-51.

Mizushima N. & Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell* 147, 728–741, 2011.

Mizushima N. Autophagy: process and function. *Genes Dev.* 21, 2861-73, 2007.

- Moreland JD, Richardson JA, Goldsmith CH, Clase CM. Muscle weakness and falls in older adults: a systematic review and meta-analysis. *J Am Geriatr Soc.* 2004;52:1121-9
- Moris S, Harruff R, Ambrosius W, Burr DB. Trabecular bone volume and microdamage accumulation in the femoral heads of women with and without femoral neck fractures. *Bone.* 1997;21:521-6.
- Morley JE, Perry HM, Miller DK. Editorial: Something about frailty. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2002;57(11):M698–704.
- Morley JE. Hormones and the aging process. *J Am Geriatr Soc.* 2003;51(7 Suppl):S333–7.
- Morley, J. E. "Anorexia, Sarcopenia, and Aging." *Nutrition* 2001;17 (7-8):660-3.
- Morley, J. E. "Growth Hormone: Fountain of youth or Death Hormone?" *J Am Geriatr Soc* 1999 ; 47(12): 1475-6.
- Nakatogawa, H., Suzuki, K., Kamada, Y. & Ohsumi, Y. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10, 458– 467 (2009).
- Newman AB, Gottdiener JS, Mcburnie MA, et al. Associations of subclinical cardiovascular disease with frailty. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001;56:M158–M66
- Newton JL, Kenny RA, Frearson R, Francis RM. A prospective evaluation of bone mineral density measurement in females who have fallen. *Age Ageing.* 2003 Sep;32(5):497-502.
- Nicks KM, Amin S, Atkinson EJ, Riggs BL, Melton III LJ, Khosla S. Relationship of age to bone microstructure independent of areal bone mineral density. *J Bone Miner Res.* 2012;27,637-44.
- NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy.. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA.* 2001;14;285(6):785-95
- Nollet M, Santucci-Darmanin S, Breuil V, Al-Sahlanee R, Cros C, Topi M, Momier D, Samson M, Pagnotta S, Cailleteau L, Battaglia S, Farlay D, Dacquin R, Barois N, Jurdic P, Boivin G, Heymann D, Lafont F, Lu SS, Dempster DW, Carle GF, Pierrefite-Carle V. Autophagy in osteoblasts is involved in mineralization and bone homeostasis. *Autophagy.* 2014;10(11):1965-77.
- Nueva Guía para dejar de fumar de la Sociedad Española de Neumología (SEPAR) | Alergia y Asma Andalucía [Internet]. [citado 21 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://alergiayasma.es/nueva-guia-para-dejar-de-fumar-de-la-sociedad-espanola-de-neumologia-separ>.
- Nuschke A, Rodrigues M, Stolz DB, Chu CT, Griffith L, Wells A. Human mesenchymal stem cells/multipotent stromal cells consume accumulated autophagosomes early in differentiation. *Stem Cell Res Ther.* 2014 Dec 17;5(6):140.
- Oga A, Kong G, Ishii Y, Izumi H, Park CY, Sasaki K. Preferential loss of 5q14-21 in intestinal-type gastric cancer with DNA aneuploidy. *Cytometry.* 2001;46:57-62.
- Ohta H, Kuroda T, Onoe Y, Orito S, Ohara M, Kume M, et al. The impact of lifestyle factors on serum 25-hydroxyvitamin D levels: a cross-sectional study in Japanese women aged 19-25 years. *J Bone Min Metab.* 2009;27(6):682-8.

OMS. 1993. Classification Internationale Des Handicaps: Déficiences, Incapacités, Désavantages. Paris, France: INSERM.

Onal M, Piemontese M, Xiong J, Wang Y, Han L, Ye S, Komatsu M, Selig M, Weinstein RS, Zhao H, Jilka RL, Almeida M, Manolagas SC, O'Brien CA. Suppression of autophagy in osteocytes mimics skeletal aging. *J Biol Chem*. 2013 Jun 14;288(24):17432-40.

Payette, H., R Roubenoff, P. F. Jacques, C. A. Dinarello, P. W. Wilson, L. W. Abad, and T. Harris.. "Insulin-Like Growth Factor-I and Interleukin 6 Predict Sarcopenia in Very Old Community-Living Men and Women: the Framingham Heart Study." *J Am Geriatr Soc* 2003; 51(9):1237-43.

Perry, H. M. 3rd, D. K. Miller, P. Patrick, and J. E. Morley. 2000. "Testosterone and Leptin in Older African-American Men' Relationship to Age, Strength, Function, and Season." *Metabolism* 49(8): 1085-91

Pierrefite-Carle V, Santucci-Darmanin S, Breuil V, Camuzard O, Carle GF. Autophagy in bone: Self-eating to stay in balance. *Ageing Res Rev*. 2015 Nov;24(Pt B):206-17.

Plantinga TS, van de Vosse E, Huijbers A, Netea MG, Joosten LA, Smit JW, Netea-Maier RT. Role of genetic variants of autophagy genes in susceptibility for non-medullary thyroid cancer and patients outcome. *PLoS One*. 2014 Apr 16;9(4):e94086.

Prado CM, Lieffers JR, Mc Cargar LJ et al. Prevalence and clinical implications of sarcopenic obesity in patients with solid tumours of the respiratory and gastrointestinal tracts: a population-based study. *Lancet Oncol* 2008;9:629–35

Prentice A. Nutrition and health of the elderly: osteoporosis. *J Nutr Health Aging*. 2002;6(4):282-6.

Puts MT, Visser M, Twisk JW, Deeg DJ, Lips P. Endocrine and inflammatory markers as predictors of frailty. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Oct;63(4):403-11.

Pyo JO, Nah J, Jung YK. Molecules and their functions in autophagy. *Exp Mol Med*. 2012;44:73-80.

Pyo JO, Yoo SM, Ahn HH, Nah J, Hong SH, Kam TI, Jung S, Jung YK. Overexpression of Atg5 in mice activates autophagy and extends lifespan. *Nat Commun*. 2013;4:2300.

Qu T, Yang H, Walston JD, Fedarko NS, Leng SX. Upregulated monocytic expression of CXC chemokine ligand 10 (CXCL-10) and its relationship with serum interleukin-6 levels in the syndrome of frailty. *Cytokine*. 2009 Jun;46(3):319–24.

Ramus SJ, Pharoah PD, Harrington P, Pye C, Werness B, Bobrow L, Ayhan A, Wells D, Fishman A, Gore M, DiCioccio RA, Piver MS, Whittemore AS, Ponder BA, Gayther SA. BRCA1/2 mutation status influences somatic genetic progression in inherited and sporadic epithelial ovarian cancer cases. *Cancer Res*. 2003 Jan 15;63(2):417-23.

Riggs BL, Khosla S, Melton LJ 3rd. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res*. 1998;13:763-73.

Riggs BL, Melton LJ. The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. *Bone*. 1995 Nov;17(5 Suppl):505S – 511S.

Rioux JD, Xavier RJ, Taylor KD, Silverberg MS, Goyette P, Huett A, Green T, Kuballa P, Barmada MM, Datta LW, Shugart YY, Griffiths AM, Targan SR, Ippoliti AF, Bernard EJ, Mei L, Nicolae DL, Regueiro M, Schumm LP, Steinhart AH, Rotter JI, Duerr RH, Cho JH, Daly MJ, Brant SR. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nat Genet.* 2007 May;39(5):596-604.

Risk assessment. Physician's Guide for the prevention and treatment of osteoporosis. National Osteoporosis Foundation (NOF). 2003.

Rockwood K .What would make a definition of frailty successful? *Age Ageing.* 2005;34:432-4.

Rockwood K, Bergman H. FRAILTY: a report from the 3(rd) Joint Workshop of IAGG/WHO/SFSGG, Athens, Jan 2012. *Can Geriatr J.* 2012;15:31–36.

Rockwood K, Fox RA, Stolee P, Robertson D, Beattie BL. Frailty in elderly people: an evolving concept. *CMAJ.*1994;15;150:489-95.

Rockwood K, Hogan DB, MacKnight C. Conceptualisation and measurement of frailty in elderly people. *Drugs Aging.* 2000;17: 295-302.

Rockwood K, Mitnitski A. Frailty defined by deficit accumulation and geriatric medicine defined by frailty. *Clin Geriatr Med.* 2011 Feb;27(1):17–26.

Rockwood K, Mitnitski A. Frailty in relation to the accumulation of deficits. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2007 Jul;62(7):722–7.

Rockwood K, Song X, MacKnight C, Bergman H, Hogan DB, McDowell I, et al. A global clinical measure of fitness and frailty in elderly people. *Can Med Assoc J.* 2005;173:489-95.

Rockwood K, Stadnyk K, Carver D, MacPherson KM, Beanlands HE, Powell C, et al. A clinimetric evaluation of specialized geriatric care for rural dwelling, frail older people. *J Am Geriatr Soc.* 2000;48:1080-5.

Rockwood K, Stadnyk K, MacKnight C, McDowell I, Hebert R, Hogan DB. A brief clinical instrument to classify frailty in elderly people. *Lancet.* 1999;353:205-6.

Rockwood K. Frailty and its de finition: a worthy challenge. *J Am Geriatr Soc.* 2005 Jun;53(6):1069–70.

Rodríguez M, Rodríguez W. PCR en tiempo real. Métodos físicos-químicos en Biotecnología 2006 [Internet]. [citado 21 de marzo de 2017]. Disponible en: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/realtime_pcr.pdf.

Rolland Y, Czerwinski S, Abellan Van Kan G, Morley JE, Cesari M, Onder G, Woo J, Baumgartner R, Pillard F, Boirie Y, Chumlea WM, Vellas B. Sarcopenia: its assessment, etiology, pathogenesis, consequences and future perspectives. *J Nutr Health Aging.* 2008 Aug-Sep;12(7):433-50.

Romagnoli E, Cipriani C, Nofroni I, et al. Trabecular bone score (TBS): an indirect measure of bone micro-architecture in postmenopausal patients with primary hyperparathyroidism. *Bone.* 2013 Mar;53(1): 154–9.

- Romero Ortuño R. [The Frailty Instrument for primary care of the Survey of Health, Ageing and Retirement in Europe (SHARE-FI): results of the Spanish sample]. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2011 Sep-Oct;46(5):243-9.
- Roos MR, Rice CL, Connelly DM, Vandervoort AA. Quadriceps muscle strength, contractile properties, and motor unit firing rates in young and old men. *Muscle Nerve*. 1 de agosto de 1999;22(8):1094-103
- Rosenberg, I. H. Summary comments. *Am. J. Clin. Nutr.* 1989;50, 1231– 1233.
- Roubenoff, R. and V. A. Hughes. "Sarcopenia: Current Concepts." *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000;55(12):M716-24.
- Roubenoff, R., H. Parise, H. A. Payette, L. W. Abad, R. D'Agostino, P. F. Jacques, P. W. Wilson, C. A. Dinarello, and T. B. Harris. "Cytokines, Insulin-Like Growth Factor 1, Sarcopenia, and Mortality in Very Old Community-Dwelling Men and Women: the Framingham Heart Study." *Am J Med* 2003; 115(6):429-35.
- Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell*. 2011;146:682-695.
- Rubinsztein DC, Shpilka T, Elazar Z. Mechanisms of autophagosome biogenesis. *Curr Biol*. 2012 Jan 10;22(1):R29-34.
- Santos-Eggimann B, Cuenoud P, Spagnoli J, Junod J. Prevalence of frailty in middle-aged and older community-dwelling Europeans living in 10 countries. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009;64:675– 81.
- Schmaltz HN, Fried LP, Xue QL, Walston J, Leng SX, Semba RD. Chronic cytomegalovirus infection and inflammation are associated with prevalent frailty in community-dwelling older women. *J Am Geriatr Soc*. 2005;53:747–754.
- Schousboe JT, Shepherd JA, Bilezikian JP, Baim S. Executive summary of the 2013 International Society for Clinical Densitometry Position Development Conference on bone densitometry. *J Clin Densitom*. 2013;16(4):455-66.
- Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet*. 2002;359:1841-50
- Shardell M, Hicks GE, Miller RR, et al. Association of low vitamin D levels with the frailty syndrome in men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009;64:69–75.
- Shield KD, Gmel G, Gmel G, Mäkelä P, Probst C, Room R, Rehm J. Lifetime risk of mortality due to different levels of alcohol consumption in seven European countries: implications for low-risk drinking guidelines. *Addiction*. 2017 Mar 20
- Shiraishi K, Okita K, Kusano N, Harada T, Kondoh S, Okita S, Ryozaawa S, Ohmura R, Noguchi T, Iida Y, Akiyama T, Oga A, Fukumoto Y, Furuya T, Kawauchi S, Sasaki K. A comparison of DNA copy number changes detected by comparative genomic hybridization in malignancies of the liver, biliary tract and pancreas. *Oncology*. 2001;60(2):151-61.

Silva BC, Leslie WD, Resch H, Lamy O, Lesnyak O, Binkley N, McCloskey EV, Kanis JA, Bilezikian JP. Trabecular bone score: a noninvasive analytical method based upon the DXA image. *J Bone Miner Res.* 2014 Mar;29(3):518-30.

Silva BC, Leslie WD. Trabecular Bone Score: A New DXA-Derived Measurement for Fracture Risk Assessment. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2017 Mar;46(1):153-180.

Simonelli C, Leib E, Mossman N, Winzenrieth R, Hans D, McClung M. Creation of an ageadjusted, dual-energy x-ray absorptiometry-derived trabecular bone score curve for the lumbar spine in non-Hispanic US White women. *J Clin Densitom.* 2014.

Singh R, Kaushik S, Wang Y, Xiang Y, Novak I, Komatsu M, Tanaka K, Cuervo AM, Czaja MJ. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature.* 2009 Apr 30;458(7242):1131-5

Smolková B, Bonassi S, Buociková V, Dušinská M, Horská A, Kuba D, Džupinková Z, Rašlová K, Gašparovič J, Slíž I, Ceppi M, Vohnout B, Wsółová L, Volkovová K. Genetic determinants of quantitative traits associated with cardiovascular disease risk. *Mutat Res.* 2015 Aug;778:18-25.

Songane M, Kleinnijenhuis J, Alisjahbana B, Sahiratmadja E, Parwati I, Oosting M, Plantinga TS, Joosten LA, Netea MG, Ottenhoff TH, van de Vosse E, van Crevel R. Polymorphisms in autophagy genes and susceptibility to tuberculosis. *PLoS One.* 2012;7(8):e41618

Sosa H.E., Díez P.A. Osteoporosis. Concepto. Etiopatogenia. Clínica. *Medicine* [Internet] 2009 [consultado 16 de enero de 2017] Vol. 209, págs. 3-9. Disponible en: <https://www.fesemi.org/sites/default/files/documentos/publicaciones/extra-medicine-roni-osteoporosis.pdf>.

Sosa Henríquez M, Gómez de Tejada Romero MJ. El término osteopenia y el riesgo de fractura. *Anal Med Int.* En prensa 2006

Sosa Henríquez M, Gómez de Tejada Romero MJ. Osteoporosis: definición, tendencia epidemiológica, avances en la fisiopatología y clínica. *Medicine: Programa de Formación Médica Continuada Acreditado.* 2014;11(60):3527-34.

Sosa Henríquez M. Fisiopatología y epidemiología de la fractura de cadera. *Osteoporos Aten Primar.* 1997;3:5-7.

Sourial N, Bergman H, Karunanathan S, Wolfson C, Payette H, Gutierrez-Robledo LM, Béland F, Fletcher JD, Guralnik J. Implementing frailty into clinical practice: a cautionary tale. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2013 Dec;68(12):1505-11.

Sternberg SA, Levin R, Dkaidek S, Edelman S, Resnick T, Menczel J. Frailty and osteoporosis in older women – a prospective study. *Osteoporos Int.* Epub September 4, 2013.

Sternberg SA, Levin R, Dkaidek S, Edelman S, Resnick T, Menczel J. Frailty and osteoporosis in older women--a prospective study. *Osteoporos Int.* 2014 Feb;25(2):763-8.

Sternberg SA, Levin R, Dkaidek S, Edelman S, Resnick T, Menczel J. Frailty and osteoporosis in older women--a prospective study. *Osteoporos Int.* 2014 Feb;25(2):763-8

- Sternberg SA, Wershof Schwartz A, Karunananthan S, Bergman H, Mark Clarfield A. The identification of frailty: a systematic literature review. *J Am Geriatr Soc.* 2011;59(11):2129–38.
- Stevens JA, Sogolow ED. Gender differences for non-fatal unintentional fall related injuries among older adults. *Inj Prev.* 2005 Apr;11(2):115-9.
- Strawbridge WJ, Shema SJ, Balfour JL, Higby HR, Kaplan GA. Antecedents of frailty over three decades in a older cohort. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci.* 1998;53:9-16
- Studenski S, Hayes RP, Leibowitz RQ, Bode R, Lavery L, Walston J, et al. Clinical global impression of change in physical frailty: Development of a measure based on clinical judgment. *J Am Geriatr Soc.* 2004;52:1560-6
- Sutton JL, Gould RL, Daley S, Coulson MC, Ward EV, Butler AM, Nunn SP, Howard RJ. Psychometric properties of multicomponent tools designed to assess frailty in older adults: A systematic review. *BMC Geriatr.* 2016 Feb 29;16(1):55.
- Svedbom A, Hernlund E, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, et al; EU Review Panel of IOF. Osteoporosis in the European Union: a compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos.* 2013;8(1-2):137
- Tavernarakis N, Pasparaki A, Tasdemir E, Maiuri MC, Kroemer G. The effects of p53 on whole organism longevity are mediated by autophagy. *Autophagy.* 2008 Oct;4(7):870-3.
- Terracciano C, Celi M, Lecce D, et al. Differential features of muscle fiber atrophy in osteoporosis and osteoarthritis. *Osteoporos Int.* 2013;24:1095-100.
- Tom SE, Adachi JD, Anderson FA Jr, Boonen S, Chapurlat RD, Compston JE, Cooper C, Gehlbach SH, Greenspan SL, Hooven FH, Nieves JW, Pfeilschifter J, Roux C, Silverman S, Wyman A, LaCroix AZ; GLOW Investigators. Frailty and fracture, disability, and falls: a multiple country study from the global longitudinal study of osteoporosis in women. *J Am Geriatr Soc.* 2013 Mar;61(3):327-34.
- Tom SE, Adachi JD, Anderson FA Jr, Boonen S, Chapurlat RD, Compston JE, Cooper C, Gehlbach SH, Greenspan SL, Hooven FH, Nieves JW, Pfeilschifter J, Roux C, Silverman S, Wyman A, LaCroix AZ; GLOW Investigators. Frailty and fracture, disability, and falls: a multiple country study from the global longitudinal study of osteoporosis in women. *J Am Geriatr Soc.* 2013 Mar;61(3):327-34.
- Torres-Lagares D, Tulasne JF, pouget C, Llorens A, Saffar JL, Lesclous P. Structure and remodeling of the human parietal bone: an age and gender histomorphometric study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2010;38:325-30.
- Usategui-Martín R, García-Aparicio J, Corral-Gudino L, Calero-Paniagua I, Del Pino-Montes J, González Sarmiento R. Polymorphisms in autophagy genes are associated with paget disease of bone. *PLoS One.* 2015 Jun 1;10(6):e0128984.
- van Geel TA, Huntjens KM, van den Bergh JP, Dinant GJ, Geusens PP. Timing of subsequent fractures after an initial fracture. *Curr Osteoporos Rep.* 2010 Sep;8(3):118-22
- van Staa TP, Dennison EM, Leufkens HG, Cooper C. Epidemiology of fractures in England and Wales. *Bone.* 2001 Dec;29(6):517-22.

- Vandervoort AA, Hayes KC. Plantarflexor muscle function in young and elderly women. *Eur J Appl Physiol.* 1989;58(4):389-94
- Varadhan R, Chaves PH, Lipsitz LA, et al. Frailty and impaired cardiac autonomic control: new insights from principal components aggregation of traditional heart rate variability indices. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2009;64:682–87.
- Vasto S, Mocchegiani E, Malavolta M, et al. Zinc and inflammatory/ immune response in aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1100:111–122
- Velikkakath AK, Nishimura T, Oita E, Ishihara N, Mizushima N. Mammalian Atg2 proteins are essential for autophagosome formation and important for regulation of size and distribution of lipid droplets. *Mol Biol Cell.* 2012;23:896-909.
- Visser M, Deeg DJ, Lips P; Longitudinal Aging Study Amsterdam. Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Dec;88(12):5766-72.
- Walston J, Fried LP. Frailty and the older man. *Med Clin North Am.* 1999;83(5):1173–94.
- Walston J, Hadley EC, Ferrucci L et al. Research agenda for frailty in older adults: toward a better understanding of physiology and etiology: summary from the American Geriatrics Society/National Institute on Aging Research Conference on Frailty in Older Adults. *J Am Geriatr Soc.* 2006;54:991-1001.
- Walston J, McBurnie MA, Newman A, et al. Frailty and activation of the inflammation and coagulation systems with and without clinical morbidities: results from the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med.* 2002;162:2333–2341
- Wang GC, Kao WH, Murakami P, et al. Cytomegalovirus infection and the risk of mortality and frailty in older women: a prospective observational cohort study. *Am J Epidemiol.* 2010;171:1144–1152.
- Waters DL, Brooks WM, Qualls CR, Baumgartner RN. Skeletal muscle mitochondrial
- WHO (2003) The burden of musculoskeletal conditions at the start of the new millennium. *World Health Organization Tech Rep Ser* 919: i-218.
- Wicherts IS, van Schoor NM, Boeke AJP, Visser M, Deeg DJH, Smit J, et al. Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *J Clin Endocrinol Metab.* junio de 2007;92(6):2058-65
- Williams GN, Higgins MJ, Lewek MD. Aging Skeletal Muscle: Physiologic Changes and the Effects of Training. *Phys Ther.* 1 de enero de 2002;82(1):62-8.
- Winzenrieth R, Michelet F, Hans D. Three-dimensional (3D) microarchitecture correlations with 2D projection image gray-level variations assessed by trabecular bone score using high-resolution computed tomographic acquisitions: effects of resolution and noise. *J Clin Densitom.* 2013; 16:287–96.

Yang Y, Zheng X, li B, Jiang S, Jiang L. Increased activity of osteocyte autophagy in ovariectomized rats and its correlation with oxidative stress status and bone loss. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014;451,86-92

Yeolekar ME, Sukumaran S. Frailty Syndrome: A Review. *J Assoc Physicians India.* 2014;62(11):34–8.

Zahm AM, Bohensky J, Adams CS, Shapiro IM, Srinivas V. Bone cell autophagy is regulated by environmental factors. *Cells Tissues Organs.* 2011;194(2-4):274-8.